



***ATTI***  
***XIII CONVEGNO NAZIONALE***

***Ricerca e Innovazione per Ambiente,  
Salute ed Alimentazione***

***CNR, AULA MARCONI***

***ROMA, 24-25 OTTOBRE 2019***

***Comitato Scientifico***

Giovanni Antonini  
Saverio Bettuzzi  
Oliana Carnevali  
Mario Maggi  
Alberta Mandich  
Antonio Moschetta  
Damiano Gustavo Mita  
Pietro Ragni  
Aldo Roda  
Maria Svelto

***Organizzazione***

Cristiana Citton  
Deborah Di Lorenzo  
Lucia Occhioni

## *INDICE*

<b>Programma Convegno Nazionale</b>	<i>Pag. 5</i>
<b>Introduzione del Presidente</b>	<i>Pag. 9</i>
<b>Relazione Progetto H2020 “ULTRAPLACAD”</b>	<i>Pag. 21</i>
<b>Relazione Progetto Cost “Bioneca”</b>	<i>Pag. 23</i>
<b>Relazione Progetto Erasmus Plus “Bio-All”</b>	<i>Pag. 25</i>
<b>Un piano straordinario per la ricerca per il rinascimento dell’Italia</b>	<i>Pag. 27</i>
<b>Abstract comunicazioni scientifiche</b>	
<i>Trasferimento Tecnologico e Spin-Off</i>	<i>Pag. 51</i>
<i>Ambiente: priorità strategica e non procrastinabile</i>	<i>Pag. 73</i>
<i>Metabolismo e stili di vita: fattori chiave per un healthy living and ageing</i>	<i>Pag. 91</i>
<i>Alimenti funzionali, Tecnologie Agroalimentari, Nutraceutici</i>	<i>Pag. 99</i>
<i>Sessione Poster</i>	<i>Pag. 115</i>
<b>Presentazione del Consorzio INBB</b>	<i>Pag. 153</i>



# ***XIII CONVEGNO NAZIONALE I.N.B.B.***

## ***Programma***

### ***GIOVEDÌ 24 OTTOBRE***

*h. 9,30 Registrazione dei partecipanti*

*h. 10,00 Apertura dei Lavori*

PROF. GIOVANNI ANTONINI – Presidente INBB

#### *Presentazioni Progetti Europei*

PROF. GIUSEPPE SPOTO – Coordinatore Progetto *Horizon 2020*  
“Ultraplacad”

PROF. FRANCO RUSTICHELLI – Coordinatore Progetto *COST* “Bioneca”

DOTT. PIETRO RAGNI – Coordinatore IT progetto *Erasmus Plus* “BIO-ALL”

*h. 10,45 – 13,00 Tavola Rotonda*

*“IL SISTEMA UNIVERSITÀ, RICERCA ED INNOVAZIONE PER LO SVILUPPO DEL PAESE”*

#### *Coordina:*

DOTT. PAOLO OCCHIALINI – INBB

#### *Introduzione:*

DOTT. PIETRO RAGNI – Direttore INBB

#### *Partecipano:*

PROF. EUGENIO GAUDIO – Rettore Univ. “Sapienza” Roma

PROF. FRANCESCO LORETO – Direttore Dipartimento Scienze Bio-Agroalimentari CNR

PROF.SSA MARIA SVELTO – Presidente Distretto H-BIO Puglia

DOTT. MASSIMO IANNETTA – Responsabile Divisione Biotecnologie e Agroindustria ENEA

DOTT. GIUSEPPE CARUSO – Capo Area Ricerca FARMINDUSTRIA

*h. 13,00 Pausa Pranzo*

***h. 14,00 – 16,00***

***“Trasferimento Tecnologico e Spin-Off”***

*Chair:* DOTT. PIETRO RAGNI – Direttore INBB

DOTT. FILIPPO SURACE – CEO CUBE-LABS “Technology transfer innovative models in life science”

PROF. SAVERIO BETTUZZI – Univ. Parma “Lo Spin-off “ADAMAS Biotech”

PROF.SSA SILVIA BISTI – Univ. L’Aquila “Saffron in neurodegenerative diseases – Lo spin-off BioAurum”

DOTT.SSA MARTINA ZANGHERI – Univ. Bologna “Lo Spin-off Lumina Nanobiotec”

PROF. MASSIMO MASSETTI – Univ. Gemelli Roma “Hybrid spatula & purple code - Lo spin-off Rescue Code”

PROF. AMATO DE PAULIS – Univ. Napoli “Federico II” “Role of small molecules in the treatment of systemic sclerosis”

DOTT. SERGIO BODINI – Systea SpA “Nuovo analizzatore on-line per la determinazione di tossine algali in acque superficiali per uso potabile”

DOTT. RENATO DEL GROSSO – Resp. Market Access CUBE LABS “Collaborazione università ed imprese nelle life science: l’esempio del Progetto BIO-ALL”

***h. 16,00 – 18,00***

***“Ambiente: priorità strategica e non procreastinabile”***

*Chair:* PROF. DAMIANO GUSTAVO MITA — Lab. Interferenti Endocrini

INBB - PROF.SSA OLIANA CARNEVALI – Univ. Politecnica delle Marche-

PROF.SSA ALBERTA MANDICH – Univ. Genova

PROF. FRANCESCO REGOLI – Univ. Politecnica delle Marche “Microplastiche negli organismi marini: distribuzione, effetti e rischi lungo le reti trofiche”

PROF.SSA ALBERTA MANDICH – Univ. Genova “Tecnologie per il monitoraggio e la salvaguardia dei cetacei”

PROF.SSA VINCENZA LAFORGIA – Univ. Napoli “Federico II” “L'importanza degli organismi bioindicatori: la lucertola *Podarcis sicula* come esempio di bioindicatore terrestre”

DOTT. RICCARDO MORETTI - ENEA Bioag “Biotecnologie per lo sfruttamento di batteri simbiotici nel controllo di insetti vettori di malattie”

PROF.SSA ELISABETTA LOFFREDO – Univ. Bari “Impiego delle piante per la rimozione di pesticidi ed interferenti endocrini dal suolo”

DOTT.SSA ISABEL FORNER – CNRS Functional Genetics Institute, Montpellier. “Effetto dei plastificanti sul metabolismo e riproduzione di organismi acquatici

***h. 18,00 Chiusura dei lavori della giornata***

## ***VENERDÌ 20 OTTOBRE***

***h. 9,15 – 11,15***

***“Metabolismo e stili di vita: fattori chiave per un healthy living and ageing”***

*Chair:* PROF.SSA MARIA SVELTO – Univ. Bari

PROF. ANTONIO MOSCHETTA – Univ. Bari “Nutrienti, geni e sindrome metabolica: ruolo oncologico”

PROF.SSA LICIA IACOVIELLO – Univ. Bari “Nutrienti, rischio cardiovascolare e longevità: lo studio Molisani”

PROF. MARIO MAGGI – Univ. Firenze “Physical activity and male hypogonadism”

PROF. FRANCESCO RICCI – Univ. Roma “Tor Vergata” “DNA-based nanodevices for the detection of diagnostic antibodies”

***h. 11,15 – 13,15***

***Sessione: “Alimenti funzionali, Tecnologie Agroalimentari, Nutraceutici”***

***Chair:*** PROF. ALDO RODA – Univ. Bologna; PROF. SAVERIO BETTUZZI – Univ. Parma

PROF. FRANCESCO CAPOZZI – CIRI-AGRO, Univ. Bologna “Il contributo delle nuove tecnologie agro-alimentari nella qualità, sostenibilità e valore aggiunto nutrizionale-salutistico di alimenti e sostanze biologicamente attive”

PROF.SSA PATRIZIA BRIGIDI – Univ. Bologna “Il ruolo del Microbiota nel mantenimento della salute ed interazioni della flora batterica con nutraceutici”

DOTT. FRANCESCO GIANSAANTI –Univ. L’Aquila “Attività nutraceutica di lattoferrina, ovo transferrina e loro derivati”

DOTT.SSA MANUELA RIZZOLI – Coswell SpA “Cioccolato e cacao: guardare oltre”

PROF.SSA FEDERICA MARIA ANGELA RIZZI – Univ. Parma “Metabolismo cardiaco e catechine del tè verde”

PROF.SSA PAOLA RIZZO – Univ. Ferrara “Nutraceutici e riduzione del rischio cardiovascolare: ruolo dei recettori Notch”

***h. 13,30                      Premiazione e Chiusura del Convegno***

# INTRODUZIONE

## DEL PRESIDENTE DEL CONSORZIO INBB

*Giovanni Antonini*

*Presidente Consorzio Interuniversitario INBB;*

*Dipartimento di Scienze, Università Roma Tre*

Care amiche e cari amici, cari colleghi e autorità, é con enorme piacere che inauguriamo oggi il XIII Convegno Nazionale INBB dal titolo “Ricerca e Innovazione per Ambiente, Salute ed Alimentazione”.

Permettetemi innanzitutto di salutare e ringraziare i membri del Comitato Scientifico e del Comitato Organizzatore che hanno permesso lo svolgimento del convegno.

Vorrei anche ringraziare il CNR che ha concesso il suo patrocinio e l’utilizzo dei suoi spazi, come ormai tradizione che conferma lo storico rapporto speciale che abbiamo con il maggior ente di ricerca nazionale, riconfermato con la nuova convenzione del 2017. Inoltre, è con grande riconoscenza che ringrazio gli sponsor Coswell, CUBELabs, Hortus Novus e Systea.

**Come ben sapete, l’Istituto Nazionale di Biostrutture e Biosistemi (I.N.B.B.) è un Consorzio Interuniversitario che ha ricevuto il riconoscimento della personalità giuridica con D.M. - MURST del 11/12/1995, al momento vede la presenza di 24 atenei pubblici nel campo delle Scienze della Vita ed è vigilato dal Ministero dell’Istruzione, dell’Università e della Ricerca Scientifica e Tecnologica (MIUR), che nomina i tre**

membri del Collegio dei Revisori dei Conti e due membri nel Consiglio Direttivo come suoi rappresentanti.

**All'I.N.B.B. aderiscono circa 650 ricercatori universitari** (per lo più Professori ordinari ed associati) e degli enti pubblici di ricerca, ammessi in base ad una selettiva valutazione delle pubblicazioni scientifiche, che vengono divisi nei sei settori di ricerca del Consorzio: Biomolecole, Biostrumentazione e Bioelettronica, Biosistemi e Bioregolazioni, Biotecnologie, Unità Funzionali Biologiche Supramolecolari, Cellule.

**Il Consorzio ha lo scopo statutario** di promuovere e coordinare attività di ricerca scientifica nel campo delle Biostrutture e Biosistemi tra le Università consorziate ed Istituzioni, nazionali ed internazionali. A tal fine il Consorzio ha l'obiettivo strategico di incrementare e qualificare l'attività dei ricercatori aderenti promuovendone la capacità progettuale e raccogliendo risorse finanziarie per metterle a disposizione delle Unità di ricerca operanti presso le università consorziate, sostenendone i costi per borse di studio e/o contratti per giovani ricercatori, per l'acquisto di attrezzature e di materiale di consumo. Con il rinnovo degli Organi consortili concluso nella primavera di quest'anno, si è deciso, come si rileva anche dall'organizzazione del Convegno Nazionale, che le attività di INBB saranno orientate nel prossimo futuro nelle tre aree (Alimenti, Ambiente e Salute) scientifiche e produttive strategiche non solo per l'interesse immediato dei cittadini, ma anche per lo sviluppo sostenibile del nostro futuro.

**In merito alle attività svolte**, la Giunta ed il Consiglio Direttivo hanno riconosciuto all'unanimità che: a) il Consorzio ha un significativo valore di bilancio del Patrimonio Netto, che

lo mette al riparo da impreviste difficoltà finanziarie; b) il Consorzio negli ultimi sei anni ha sempre chiuso il bilancio in positivo; c) il Consorzio non ha mai richiesto alcun supporto integrativo alle università consorziate, dopo la quota di adesione iniziale; d) il MIUR ha dimostrato recentemente nuova attenzione per le attività svolte dai Consorzi Interuniversitari di ricerca tematica, riattivando la voce ad hoc nel FFO a favore dei CIRT; e) dopo avere ottenuto un'ottima valutazione nella VQR 2004-2010, il Consorzio è stato tra i pochi CIRT (9 in totale) che si sono volontariamente sottoposti anche alla VQR 2011-2014; f) negli ultimi anni il Consorzio è riuscito ad ottenere interessanti successi sia in ambito di progetti finanziati nazionali ed europei, sia con attività direttamente finanziate nei settori di riferimento e vi sono le adeguate premesse perché anche nel prossimo futuro il Consorzio possa confermarli.

**Il Consorzio gestisce tre propri Laboratori Nazionali**, sostenuti con risorse proprie, per incentivare e concentrare la collaborazione tra Unità di Ricerca di differenti atenei:

1) Il laboratorio nazionale INBB su “Interferenti Endocrini”, presso il CNR di Napoli, responsabile Prof. Damiano Gustavo Mita. Un incontro è stato organizzato a fine 2016 a Napoli anche in occasione della firma della convenzione con l’Istituto di Genetica e Biofisica “Adriano Buzzati-Traverso” per confermare per 5 anni l’ospitalità per il nostro laboratorio INBB

2) E’ stato spostato dal Sant’Orsola presso l’Area di Ricerca del CNR di Bologna, il Centro sulle cellule staminali e gli effetti vibrazionali, responsabile il Prof. Ventura, il quale ha, nello scorso anno, avviato anche una proficua ed innovativa attività di ricerca con ELDOR Lab, un gruppo italiano leader nel settore della componentistica automotive, attento ad

investire su progetti fortemente innovativi in campo Bio.

3) Durante il 2016 l'INBB ha deciso di chiudere la sede di Osilo; tuttavia, grazie ad una Convenzione quinquennale con il Dipartimento di Scienze Biomediche dell'Università degli Studi di Sassari, tutti gli arredi e le strumentazioni sono state spostate nel 2017 in un locale di detto Dipartimento. Pertanto, il Laboratorio Nazionale sulla Farmacologia e Medicina di Genere dell'INBB, con la direzione della Prof.ssa Franconi ha continuato la sua attività presso l'Ateneo sassarese.

In questi anni, grazie all'impegno della struttura del Consorzio, degli organi d'indirizzo dell'INBB e delle tante unità di ricerca attive in molti degli atenei associati abbiamo valorizzato una serie di interessanti opportunità che non soltanto invogliano ogni aderente a partecipare attivamente alla vita del Consorzio, ma soprattutto caratterizzano il nostro Consorzio, al pari degli altri otto CIRT (Consorzi interuniversitari di Ricerca) riconosciuti dal MIUR e valutati dall'esercizio VQR dell'ANVUR. Di seguito elenchiamo in breve queste caratteristiche distintive.

**Possibile partecipazione come Consorzio (con più Unità di Ricerca) a cordate progettuali e maggiore facilità di “collaborazioni di filiera” nella elaborazione di progetti complessi.** Sempre più frequentemente bandi nazionali (MIUR, es: PON o Cluster) o regionali richiedano, come già nei progetti europei, un numero limitato di soggetti partecipanti, pur esigendo una particolare complessità progettuale. La natura del Consorzio permette di coinvolgere, pur essendo l'INBB unico soggetto partecipante, più Unità di Ricerca (UdR) di atenei differenti, aumentando la massa critica e le competenze, quindi le possibilità di successo della cordata da una parte e

non impedendo all'ateneo di partecipare direttamente con altre UdR.

**Supporto della Direzione INBB nella presentazione di progetti nazionali ed europei.** Al momento della elaborazione delle proposte progettuali, la Direzione del Consorzio riesce a garantire un supporto tecnico-gestionale alle UdR INBB soprattutto per gli aspetti di formulazione del budget più consoni alle caratteristiche del bando, per la compilazione della modulistica di riferimento e per gli aspetti delle possibili partnership accademiche o industriali. Il Consorzio INBB si è inoltre dotato di una struttura di supporto per progetti Europei. Ricordiamo con orgoglio che l'INBB ha avuto il compito di coordinare in Europa il progetto "Ultraplacad" che è di rilevante dimensione sia organizzativa (13 soggetti appartenenti a 7 diversi paesi europei), sia finanziaria (più di 6 milioni di Euro). Tale progetto si è recentemente concluso e bisogna sottolineare come l'amministrazione INBB sia risultata perfettamente idonea (nessun rilievo in corso d'opera e nessun taglio per i costi esposti) anche a sostenere una rendicontazione di grande complessità come quella prevista in Horizon 2020 ed altrettanto sta facendo per il COST.

**Trasferimento tecnologico.** L'INBB ha fatto significativi passi avanti sul versante del trasferimento tecnologico. Ormai è maturata la consapevolezza che una delle sfide più significative per il nostro consorzio è proprio quella di aiutare i colleghi che hanno realizzato importanti innovazioni a raggiungere il mercato, tanto più che questa attività non è perseguita con continuità e convinzione né dalle Università, né degli Enti pubblici di ricerca. A tal proposito abbiamo rafforzato la collaborazione con Cube Labs, un acceleratore di innovazione che si è negli ultimi anni fortemente rafforzato, iniziando ad avere una presenza significativa sul mercato della ricerca,

anche grazie a nuovi e importanti contatti non solo in Europa, ma a livello internazionale, e pensiamo, grazie a tale accordo, di poter dare una risposta concreta a chi è riuscito, grazie al suo impegno di ricerca a realizzare trovati di rilievo che possono essere avviati con presupposti di successo all'exploitation sul mercato. Dopo un lavoro durato vari mesi, grazie all'azione convinta di Cube Labs sono state costituiti negli tre anni ben 10 spin-off su progetti proposti da aderenti INBB

**Procedure semplificate per l'amministrazione.** La messa a punto di una serie di strumenti amministrativi/gestionali per aiutare i nostri aderenti nella gestione dei finanziamenti ottenuti e aiuto di tipo burocratico/amministrativo agli aderenti e alle Università consorziate. Il Consorzio può attivare contratti di collaborazione a tempo determinato con procedure snelle che richiedono poco tempo (circa 3 settimane dalla richiesta pervenuta alla Direzione) per coinvolgere risorse umane specializzate in progetti di ricerca. Anche per quanto riguarda l'acquisto di beni e servizi, l'INBB ha procedure semplificate rispetto all'amministrazione universitaria. Infine, per l'INBB non c'è il limite per le spese di missione che hanno le Università. Per le attività amministrative e gestionali INBB trattiene solo il 10% dell'importo complessivo del contratto.

**Possibili facilitazioni finanziarie da parte del Consorzio.** Il Consorzio, in virtù del proprio patrimonio netto, è in condizione di agevolare le proprie Unità di Ricerca, risultate ammesse in progetti di ricerca finanziati, ma che subiscono ritardi nell'erogazione degli anticipi per iniziare i progetti, tramite l'anticipazione di somme finanziarie, che possano favorire un regolare sviluppo del progetto e soprattutto una regolare attività di rendicontazione.

**Rapporti semplificati e flessibili con aziende private.** La gestione del Consorzio “con caratteristiche privatistiche” permette una flessibilità molto ampia nelle modalità di collaborazione con aziende private nazionali o multinazionali che agevola l’avvio di “rapporti pubblico-privato” che sono sempre più richiesti nei bandi pubblici nazionali e regionali. Se vi fosse l’opportunità di concludere un progetto o un contratto con aziende private, coinvolgendo la Direzione INBB si potranno valutare le condizioni offerte dal Consorzio, evidenziando così modalità e procedure (economiche, finanziarie e temporali) di reale interesse per il gruppo di ricerca interessato.

**Incremento delle risorse economiche acquisite dalle università ai fini del calcolo dell’FFO per le università**

E’ da sottolineare che i finanziamenti da contratti di ricerca acquisiti dal Consorzio INBB possono essere esposti anche dalle università e pertanto le Università aderenti non subiscono penalizzazioni quando i loro docenti gestiscono propri fondi di ricerca attraverso l’INBB. Infatti, nell’esporre i finanziamenti da contratti di ricerca i Consorzi certificheranno, previa dichiarazione del Direttore del Consorzio, le quote utilizzate per attività svolte presso le (o per conto delle) singole università consorziate e dal Consorzio stesso. Il Consorzio trasmetterà alle università interessate copia di tale dichiarazione e tali quote parteciperanno all’indicatore per il calcolo dell’FFO per le università.

**Lo sviluppo di network tematici di ricerca e partecipazione alle iniziative scientifiche del Consorzio**

La partecipazione attiva alle attività consortili dei singoli ricercatori aderenti permette di far parte delle iniziative scientifiche del Consorzio, a cominciare dai convegni nazionali e ai workshop tematici, ad

anni alterni, ogni due anni, oltre che agli incontri tematici per la preparazione di piattaforme scientifiche e/o di elaborazioni progettuali in risposta a bandi. All'interno dell'INBB è stato elaborato un elenco non esaustivo di progettualità che vedono coinvolte più unità di ricerca del consorzio, in molti casi con collegamenti significativi con il mondo scientifico e produttivo. E' attualmente in discussione nella Giunta Esecutiva e nel Consiglio Direttivo una nuova suddivisione delle Piattaforme, per esempio ipotizzando una matrice formata da tre ambiti: Alimenti, Ambiente e Salute e due linee di intervento per ciascuno ambito, la prima relativa a controlli, monitoraggio e diagnostica e la seconda a trasformazioni, trattamenti e terapie. Mi sembra che in questo modo possano migliorare le interazioni fra i diversi gruppi di ricerca.

Nonostante i successi ottenuti, vi sono ancora problemi da affrontare che di seguito elenchiamo.

### **1) Rendicontazione semplificate e certe, anche delle partite stipendiali del personale universitario.**

Il problema della rendicontazione dei progetti di ricerca sia a livello regionale, sia a a livello nazionale sta diventando un problema che in molti casi si configura come una barriera nel partire addirittura con progetti approvati dall'autorità pubblica. Non si può elencare l'infinito numero di problemi burocratici, di ritardi, di interpretazioni incerte, di ritardo di pagamenti su progetti già validati. Bisogna affrontare proprio la gestione rapida e certa della materia collegata con i progetti di ricerca, anche risultando la rendicontazione del personale universitario che possa andare bene a tutte le università. Pertanto, è già cura della Direzione, prima di avviare progetti che prevedono rendicontazione con ore di personale, promuovere opportuni accordi con gli Atenei o con i Dipartimenti interessati; ma

sarebbe importante che, in base alle responsabilità, MIUR e Regioni operino celermente per migliorare la situazione, fermo restando il pieno controllo dei contenuti scientifici e dell'opportuno impiego delle risorse pubbliche.

## **2) Maggiore internazionalizzazione anche extra-europea.**

E' stato avviato accordo quadro con una società cinese (EBPC, Shanghai) ed una statunitense (Royal Biotech Inc., Beverly Hills) per il trasferimento tecnologico; proprio di recente sono stati firmati accordi con On Granada (ES) e Institute Boltzman (AT). iniziative sono già promesse, ma ci dobbiamo impegnare a sollecitare la presentazione di altre proposte da parte dei nostri aderenti. In questo ambito, il Direttore ha messo le basi per partecipare con successo ad un progetto di Capacity Building nell'ambito del Programma Erasmus+ con Università, imprese, incubatori spagnoli, portoghesi ed italiani; l'obiettivo è quello proprio di delineare e supportare la formazione di figure professionali in grado di porsi all'incrocio fra il mondo della ricerca e quello della produzione con specifica attenzione all'innovazione.

## **3) Maggiore coordinazione locale delle UdR INBB**

Due attività sono state richieste soprattutto ai Direttori delle sezioni presenti nel Consiglio Direttivo: a) la ricerca e l'accesso ai bandi regionali, importanti soprattutto (ma non solo) per le Regioni Obiettivo Convergenza; b) maggiore coinvolgimento dei membri delle UdR INBB locali.

## **4) Convenzioni ed Accredimenti**

Un impegno che abbiamo preso è quello di rendere operative le Convenzioni che l'INBB ha sottoscritto. Abbiamo iniziato dalla più prestigiosa, quella con il CNR. Inoltre, anche in considerazione del nostro maggior investimento in attività di

trasferimento tecnologico, ci ripromettiamo di rivolgerci con maggiore determinazione all'ENEA, con la quale si potrebbe attivare una Convenzione simile a quella con il CNR.

#### **5) Allestimento di un database interrogabile** delle strutture, dei membri e delle ricerche INBB

In quest'ambito è stata data la priorità alla revisione completa del sito web [www.inbb.it](http://www.inbb.it) ed all'aggiornamento delle informazioni ivi riportate. Stiamo attivandoci per realizzare finalmente il database interrogabile sulle strutture, dei membri e delle ricerche INBB che finora non è stato possibile realizzare per le ristrettezze economiche degli ultimi due anni e per la quantità di nuovi impegni gestionali che vi sono stati negli ultimi anni.

#### **6) Coordinamento tra i Consorzi Interuniversitari di Ricerca tematica**

Questa attività è stata supportata con una certa continuità, che ha permesso il ripristino da parte del MIUR del contributo FFO, anche se non tutti gli anni. Purtroppo le prime aperture del MIUR sono state poi bruscamente smentite nell'estate 2017 dalla decisione di "inventare un criterio" per discriminare fra i 9 CIRT riconosciuti e finanziarne solo alcuni. Durante quest'anno ci siamo promotori per un nuovo incontro con il MIUR e ci aspettiamo che nel prossimo futuro si possa finalmente ottenere l'istituzione del tavolo tecnico fra MIUR, CRUI e CIRT e la modifica dei criteri di valutazione per l'assegnazione dei fondi FFO a vantaggio di tutti i CIRT.

#### **7) VQR**

In attesa di conoscere le modalità della prossima VQR che probabilmente interesserà gli anni dal 2015 al 2019, bisogna ricordare l'ultima VQR 2011-2014 che ha impegnato

fortemente la struttura amministrativo/gestionale dell'INBB, cui l'INBB ha deciso di partecipare volontariamente (ed onerosamente). Infatti, la nostra adesione è avvenuta sia per precisa convinzione dell'importanza dello strumento valutativo, sia per l'auspicabile collegamento a qualsiasi futuro investimento statale a favore dei CIRT (come peraltro avvenuto con il FFO 2016). I risultati ottenuti in tale VQR sono stati incoraggianti, anche se non possiamo tacere alcune aree di non piena trasparenza sia in fase di presentazione dell'esercizio, sia in fase di analisi dei risultati.

Con soddisfazione possiamo segnalare che negli ultimi anni all'interno del Consorzio ci sia stata una maggior attenzione alla citazione dell'afferenza INBB per i borsisti/contrattisti che collaborano con aderenti INBB, oltre che per i colleghi aderenti. Grazie a questo approccio è aumentato significativamente il numero di pubblicazioni che potremo presentare come prodotti nella prossima VQR e riveliamo anche la grande qualità di molti dei paper dei colleghi.

## **CONCLUSIONI**

Care amiche e cari amici, in questo periodo di forti cambiamenti nell'Università e nel settore Ricerca della Nazione, con forti riduzioni di risorse pubbliche destinate in entrambi i settori, il nostro Consorzio Interuniversitario è stato fra i pochi Consorzi Interuniversitari di Ricerca Tematica (9 in tutto) a riuscire a essere produttivo, nonostante la non continuità del supporto ministeriale ed anzi a migliorare le proprie prestazioni. Questi ottimi risultati sono stati frutto del "lavoro di squadra" della struttura organizzativa ed amministrativa del Consorzio e del lavoro di molti aderenti, in particolare, dei membri della Giunta Esecutiva e del Consiglio Direttivo.

Con orgoglio possiamo dire che il nostro, insieme con gli altri otto CIRT, di fatto formano un gruppo di istituzioni attratte dalla sfera pubblica di ricerca, in grado di competere sul mercato della ricerca pubblico e privato, regionale, nazionale ed internazionale in modo complementare rispetto agli atenei ed in modo proattivo e collaborativo verso il sistema dello sviluppo innovativo e della produzione. I CIRT ed il Consorzio INBB fra loro, vogliono offrire al MIUR, al sistema accademico ed a quello produttivo capacità, risorse di qualità, buone esperienze e pratiche per contribuire al un nuovo sviluppo del nostro Paese. Proprio per questo l'INBB, come indicato nelle proposte del Direttore, che ha voluto efficacemente evocare il Rinascimento, lancia un'idea forte per il Paese: lanciare nei prossimi anni un Piano straordinario per la Ricerca in Italia. Ci auguriamo che davvero ci sia un ampio consenso su questi temi e la volontà e l'intelligenza di operare rapidamente e con decisione in questa direzione.

## IL PROGETTO ULTRAPLACAD

*Giuseppe Spoto*

*Consorzio Interuniversitario I.N.B.B.; Dipartimento di Scienze Chimiche, Università di Catania, Catania. (gspoto@unict.it)*

Standard methods for the detection of circulating nucleic acids exploit the enzymatic amplification of the target sequences to achieve the required limit of detection. The amplification step introduces drawbacks and can generate artefacts as a consequence of sample contamination and recombination between homologous regions of DNA. Advanced methods for the detection of biomarkers are requested to operate with high selectivity, multiplexed capability and ultrasensitivity. In this context, efforts have been made to identify innovative PCR-free methods for the detection of circulating nucleic acids.

ULTRAPLACAD (ULTRASensitive PLAsmonic devices for early Cancer Diagnosis) is an EU Horizon 2020 funded project (n. 633937) aimed at developing an innovative plasmonic platform for the ultrasensitive detection of both circulating nucleic acids (DNA mutations and microRNAs) and protein biomarkers.

After 42 months from the start of the planned activities, ULTRAPLACAD succeeded in fabricating the first industrial prototype for the bimodal plasmonic detection of the selected colorectal cancer circulating biomarkers with enhanced sensitivity. The prototype has been installed at the Clinical Pathology laboratory of the Italian National Cancer Institute Regina Elena hospital and its functionality has been demonstrated during the “Ultraplacad end-user meeting” held in Rome on 24 October 2018.

The ULTRAPLACAD platform is the first available to detect both nucleic acid and protein biomarkers for the easy detection of cancer and patient follow-up from liquid biopsy samples.

ULTRAPLACAD has been coordinated by INBB and has involved a total of 13 partners (seven universities and research centers, five companies and one hospital) operating in seven European countries.

***Additional info:***

- Project website: <http://ultraplacad.eu/>
- Project promotional video:  
<https://youtu.be/88n3IRsWTm8> (English version)  
<https://youtu.be/AaMT6XIYV5c> (Italian version)
- European Parliament Portal “What europe does for me”  
[www.what-europe-does-for-me.eu/en/portal/2/C02](http://www.what-europe-does-for-me.eu/en/portal/2/C02)
- Rai Scuola, Memex Nautilus “Sangue, il fluido della vita” (da minuto 15 c.a.)  
Raiplay (<https://www.raipaly.it/video/2019/09/RAISCUOLA-PT-47-NAUTILUS-SANGUE-805d3c45-adb8-46ae-acfb-44349965e355.html>)

# ADVANCES IN THE COST PROJECT BIONECA CONNECTING PHYSICAL SCIENCES WITH REGENERATIVE CARDIOLOGY AND NEUROLOGY

*Franco Rustichelli*

*Consorzio Interuniversitario I. N. B.B., Rome, (Italy)*

Cardiovascular diseases are the leading cause of death in the western world. A progressively ageing population is increasingly affected by neurological diseases, which brings a negative impact on European economies with more than 1 billion euros cost per year. One of the most promising strategy is based on stem cell applications for cardiovascular and neurological diseases and on the employment of biomaterials for supporting cultivation and integration of stem cells in disease-affected tissues. On the basis of some experiments we performed in cooperation with cardiologists and neurologists, we conceived a project having the title: **Biomaterials and advanced physical techniques for Regenerative Cardiology and Neurology** (BIONECA), which was written with several colleagues of different disciplines, being approved by COST Organization, and commencing on March, 15 2017, **lasting 4 years**. At present **38countries** joined BIONECA.

The main goal of BIONECA is to establish an intensive interaction among top-level European Institutions of different scientific communities in order to induce significant progresses in Regenerative Cardiology and Regenerative Neurology with a consequent reduction of deaths and costs associated to brain and heart diseases.

A way to fulfil the main goal is to proceed to an exchange of information, a networking activity and a process of mutual

knowledge among scientists of the following disciplines: **physics, chemistry, mathematics, informatics, biomaterials science, material engineering, nanotechnology, surface science, rapid prototyping, advanced imaging technology, cell biology, molecular biology, tissue engineering, regenerative cardiology and regenerative neurology.**

In order to achieve the COST ACTION objectives five different Working Groups were established, with a strong interconnection among them.

WG1: Processing of Biomaterials(68 Members).

WG2: Characterization and visualization of Biomaterials and Stem Cells (112 Members)

WG3: Modelling(11Members)

WG4: Stem Cells and Neurology(43 Members)

WG5 Stem Cells and Cardiology( 28 Members)

INBB was chosen as Grant Holder of BIONECA during the first Management Committee Meeting in Bruxelles on March 15, 2017.

**Recently a Mid-term report was sent to eCOST summarizing the activities performed in the first two years of the project, namely 4 Scientific and Technical Meetings, two Training BIONECA Schools, several tens of Short Term Scientific Missions (STSM) and the preparation of some EU H2020 Projects.**

## BIO-ALL Project

***Pietro Ragni***

*Direttore Consorzio Interuniversitario I.N.B.B. , Rome, (Italy)*

Il progetto BIO-ALL è stato finanziato dal Programma EU Erasmus Plus e coinvolge 13 istituzioni di quattro paesi (ES, IT, NL e PT); avviato nel gennaio 2019 durerà per tre anni. L'ambizione di BIO-ALL è quella di accelerare le conoscenze e le competenze per stimolare l'innovazione e l'imprenditorialità nel settore delle Scienze della Vita ed in particolare nel campo della Salute. Sono previste varie attività ed eventi promuovendo la co-creazione e le dinamiche collaborative tra e all'interno dei più significativi attori dell'ecosistema (personale e studenti di istituzioni universitarie, imprese, incubatori / acceleratori, investitori e altri organismi interessati) ed il potenziamento delle risorse, metodologie e schemi innovativi per la formazione imprenditoriale.

I principali risultati del progetto sono sintetizzati di seguito.

- Una tabella di marcia con scenari in evoluzione, strategie e azioni correlate per lo sviluppo del settore → **BIOHEALTH Gear Box Blueprint**: “Guidare l’innovazione e l’imprenditorialità a favore del settore BIOHEALTH”.
- Un approccio innovativo, partecipativo e stimolante per collaborazioni efficaci tra mondo accademico, imprese e incubatori / acceleratori, concretizzato in una serie di eventi del **BIOHEALTH Gear Box**.
- **Un corso post-laurea Internazionale** su "Competenze avanzate per l'innovazione e l'imprenditorialità nel settore BIOHEALTH", composto da un programma modulare, un'unità di progetto / business plan, visite a imprese BIOHEALTH e attività basate sul progetto.

- Un **Programma internazionale di accelerazione congiunta**: “BIOHEALTH Gear Box Business Accelerator”, in cui le spin-off avranno accesso ad attività tecniche e pratiche per potenziare le loro capacità di innovazione e sviluppo.
- Un hub online collaborativo per favorire dinamiche aperte di innovazione e processi di co-creazione → **Rete Virtuale per imprenditori e innovatori nel settore BIOHEALTH.**

Il progetto BIO-ALL mira a coinvolgere i principali attori sin dall'inizio; per farlo è stata creata una ricca data-base in Italia, come egli altri paesi coinvolti. I vari attori potenzialmente interessati saranno coinvolti fin dalla progettazione dei materiali e dell'agenda di discussione che porterà all'organizzazione degli eventi dedicati a livello locale o nazionale, di seguito descritti.

Uno dei contributi dell'INBB all'organizzazione dei vari eventi è relativo all'Action Plan per BIO-ALL. In tale documento si chiariscono gli obiettivi alla base del progetto, che, da un lato, risiedono nell'informare un gran numero di attori potenzialmente interessati alle attività del progetto, ai suoi risultati e alle risorse che saranno formate durante il progetto. D'altra parte, risiedono nel garantire che tali attori e le istituzioni contattate possano essere coinvolti nelle attività del progetto, partecipando alle iniziative, interessandosi ai risultati raggiunti, offrendo il loro contributo di idee ed esperienze, interagendo tra loro.

# UN PIANO STRAORDINARIO PER LA RICERCA PER IL RINASCIMENTO DELL'ITALIA

*Pietro Ragni*

*Direttore Consorzio Interuniversitario I.N.B.B.*

Per la terza volta ho l'opportunità di avviare il Convegno nazionale del nostro Consorzio; nel 2015 sommamente tracciavo "indicazioni di cambiamento", due anni fa ci chiedevamo cosa fare per migliorare il nostro sistema terziario e della ricerca. Nel riproporre oggi il panorama della situazione, abbiamo la sensazione, un po' sconsolata, di essere costretti ad assumere l'evangelico ruolo della *Vox clamantis in deserto*<sup>1</sup>.



*Fig. 1* Deserto nei pressi del Qasr Al Burqù, forte Romano sul Limes orientale, ora in Giordania

---

<sup>1</sup> *Da Il Vangelo secondo Marco I, 1-3*

Ma, anche in questo caso, è giusto non limitarsi alla locuzione di “persona costretta a proporre consigli inascoltati” e puntare piuttosto sull’impegno a “preparare la strada” per il futuro. Certo i dati riguardanti trend di investimenti e volumi di risorse umane ed economiche non forniscono grandi incoraggiamenti; ciò non di meno, alcuni elementi positivi possono inaugurare azioni di catalizzazione e propulsione per il futuro del nostro Paese; pensiamo che la politica, le istituzioni, ciascuno di noi debba operare per imprimere una svolta significativa fin dai prossimi mesi ed anni.

### ***Istruzione terziaria: situazione allarmante***

Nella Fig. 2 sono riportati, per i Paesi EU28, i dati relativi alle percentuali di persone (fra i 30 e 34 anni) che hanno completato il ciclo di educazione terziaria; l'Italia è al penultimo posto (con il 27,8%), superata in peggio solo dalla Romania (24,6%). Si tenga conto che vi è stato un netto miglioramento rispetto al 2002 quando la percentuale italiana era solo il 13,1% (12,0 degli uomini e 14,2 delle donne); nel 2016 abbiamo sì raggiunto l'obiettivo del raddoppio dei laureati (26,2%), ma ciò è dovuto al grande incremento delle donne (32,5%), mentre l'aumento degli uomini laureati, nel *range* di età osservato, è stato ben più contenuto arrivando al 19,9%. Abbiamo così raggiunto il limite che ci eravamo fissati per il 2020 (almeno il 26%) e nel 2018 registriamo un ulteriore miglioramento di circa 1,6% rispetto al 2016, ma restiamo ben lontani sia dalla media Europea per il 2020 (40%) , sia dai 18 Paesi che l'hanno già superata e si sono posti target notevolmente superiori per il 2020. Per altro anche nella classifica OCSE 2015<sup>2</sup>, che considera un *range* di età più largo

---

<sup>2</sup> <http://ec.europa.eu/eurostat/web/education-and-training/data/main-tables>

(25-34 anni) siamo in ultima posizione, dietro a nazioni quali Cile, Turchia e Messico.

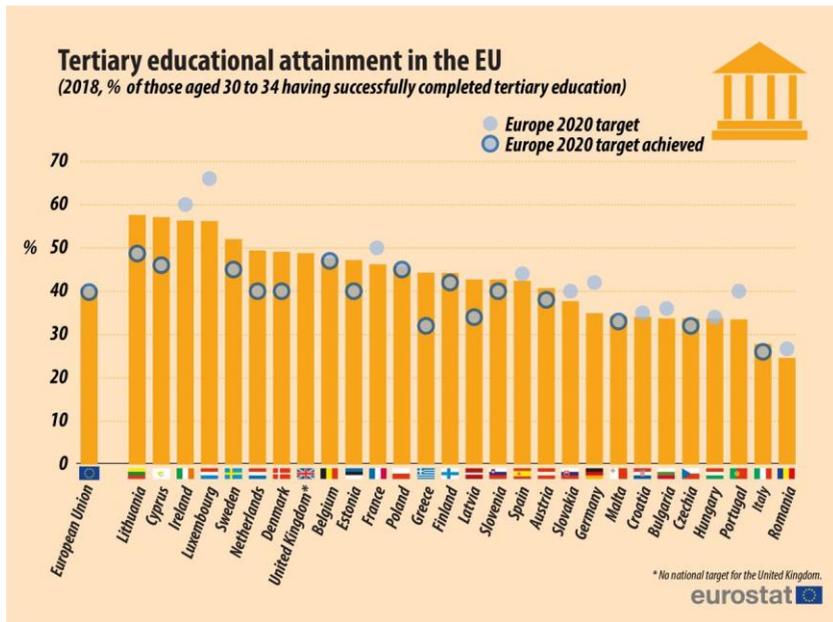


Fig. 2 – Percentuale di persone fra 30 e 34 anni che hanno completato il ciclo di educazione terziaria. Fonte: EUROSTAT "Europe 2020 education indicators in 2018" - 72/2019 - 26 April 2019

Il fenomeno è particolarmente grave, perché si accoppia anche con un trend negativo nelle iscrizioni alle università che è durato fino all'AA 2015/16 (dai circa 198 mila immatricolati del 2012/13 si era scesi a 195 mila nei due AA successivi e nel 2015/16 si è risaliti a più di 202 mila)<sup>3</sup>. Insomma si è creato un ciclo vizioso che vede da una parte un sistema produttivo in

<sup>3</sup> MIUR - Servizio Statistico "Gli immatricolati nell'a.a. 2015/2016 il passaggio dalla scuola all'università dei diplomati del 2015" (marzo 2016)

gran parte composto da aziende con basso livello tecnologico e dunque poco ricettivo nei confronti dei nuovi laureati, dall'altra lo Stato che disinveste sia in R&S sia nell'educazione terziaria e questo genera tre risultati negativi: disincentivare i giovani diplomati dall'isciversi all'università, avere un numero di laureati e di dottori della ricerca pari alla metà o meno rispetto ai Paesi più avanzati ed avere un alto tasso di disoccupazione fra i laureati (stimato al 15%).

In particolare<sup>4</sup> a cinque anni dal conseguimento del titolo il tasso di occupazione è pari all'88,6% per i laureati di primo livello e all'85,5% per i laureati di secondo livello. Ad un anno dal conseguimento del titolo il tasso di disoccupazione è pari al 15,9% tra i laureati di primo livello e al 15,8% tra i laureati di secondo livello. Sono risultati migliori, se si ricorda che nel periodo della crisi dal '07 al '12 il tasso di disoccupazione era salito da 11,2 al 26,6 (primo livello) più che raddoppiando. È bene comunque notare che i livelli di disoccupazione non sono ancora pari ai valori nel 2007.

Ad un anno dalla laurea magistrale il 71% trova occupazione, mentre circa il 20% è senza alcuna occupazione; Almalaurea rileva: "per il terzo anno consecutivo si registra -nel '17- una diminuzione del tasso di disoccupazione (...) ma il confronto con il '08 risulta ancora penalizzante: di fatto il tasso di disoccupazione è quasi raddoppiato negli ultimi otto anni (dall'11% al 20% per i magistrali biennali)". Viene confermato il dato che vede che per circa la metà dei laureati occupati ad un anno, il titolo risulta "molto efficace o efficace", il che vuol dire che l'altra metà ha trovato un impiego non corrispondente rispetto al percorso accademico concluso.

---

<sup>4</sup> *Dati del Rapporto 2019 di Almalaurea*

Il recente Rapporto sulla spesa per la pubblica istruzione 2017<sup>5</sup> sottolinea come per l'istruzione terziaria siamo al penultimo posto in Europa per gli investimenti universitari, che tra il 2010 e il 2015 sono calati di oltre 600 milioni di euro; l'Italia è all'ultimo posto su EU28 con solo il 0,3% sul PIL (0,7% è a media EU) limitatamente per spesa per pubblica istruzione universitaria, mentre è penultima in Europa per istruzione terziaria nel complesso (considerando anche la spesa privata), con una spesa media in percentuale di PIL pro capite del 5,3 % a fronte di un 10 % medio per la EU. Pur controllando per la struttura demografica, quindi, la spesa italiana per istruzione terziaria è molto bassa. “Una possibile ipotesi – si riferisce nel rapporto - è che la bassa spesa per pubblica istruzione si debba alla struttura demografica della popolazione, ossia che l'Italia spenda meno dei partner europei poiché ha meno giovani”.

Nell'anno accademico 2016/2017<sup>6</sup> il numero complessivo degli immatricolati risulta di 283 mila unità. Rispetto all'anno precedente si registra un aumento dei nuovi ingressi (di circa 11.500 studenti, +4,5%) che risulta evidente anche per gli immatricolati di età non superiore ai 19 anni (+4,4%). Il numero di immatricolati è per il 74,6% di diciannovenni, a dimostrazione del fatto che se avviene l'ingresso al sistema universitario, esso avviene quasi esclusivamente nel primo anno dopo il conseguimento del diploma; rimane predominante tra gli immatricolati la presenza femminile (55%).

Un secondo problema riguarda la percentuale di persone laureate, che per il nostro Paese è esigua risultando pari al 26,9

---

<sup>5</sup> Osservatorio dei Conti Pubblici Italiani “Rapporto sulla spesa per la pubblica istruzione 2017” 29 Luglio 2019

<sup>6</sup> MIUR “Gli immatricolati nell'a.a. 2016/2017” – Luglio 2017

% rispetto alla media europea del 39,9 %. Da un lato ciò avviene anche per le minori risorse disponibili (pochi docenti, strutture peggiori, scarsa disponibilità di laboratori, ecc.), ma certo conta molto una bassa propensione ad iscriversi all'università a causa dei rendimenti attesi. “In Italia gli adulti laureati guadagnano in media solo il 38 per cento in più di coloro che dopo la scuola superiore non hanno proseguito gli studi, mentre la media OCSE è del 55 per cento in più”<sup>7</sup>. Inoltre continua a registrarsi un alto numero di laureati in materie umanistiche (39% in Italia, rispetto al 23% in EU28) che ottengono poi occupazioni meno remunerative nel mercato del lavoro.

In conclusione, pur tenendo conto degli aspetti demografici, l'Italia mostra un preoccupante deficit nell'istruzione terziaria rispetto a tutti i Paesi europei per il concorso di problemi di domanda (i giovani non sono interessati ad iscriversi o a portare a termine il percorso) e di offerta (spesa nell'istruzione terziaria molto bassa e conseguente bassa qualità ed attrattività del sistema universitario). Bisogna inoltre tener conto di una situazione molto negativa all'ingresso dell'istruzione terziaria: la grande presenza in Italia di giovani adulti che non lavora, non studia e non frequenta un corso di formazione professionale (i cosiddetti NEET). Come si rileva nella Fig. 3 tratta da documenti OCSE<sup>8</sup>, l'Italia è al penultimo posto, sorpassata negativamente solo dalla Turchia, per media nazionale di NEET.

---

<sup>7</sup> Osservatorio dei Conti Pubblici Italiani “Rapporto sulla spesa per la pubblica istruzione 2017” - 29 Luglio 2019

<sup>8</sup> OCSE: “Uno sguardo sull'istruzione: indicatori dell'OCSE” – 2018”

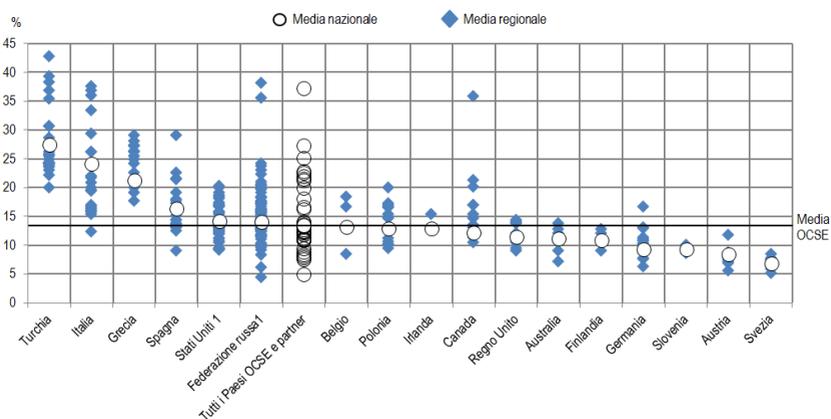


Fig. 3: Percentuale di giovani NEET di età compresa tra 15 e 29 anni, per regioni subnazionali (2017)

Si osserva una grande differenza nella percentuale dei NEET tra le diverse regioni italiane, che varia dal 12% (nel Sud) al 38% (al Nord) tra i 15-29enni. Mentre per le età compresa tra 20 e 24 anni, non si registrano grandi differenze di genere nella quota della popolazione dei NEET, nell'intervallo fra i 25-29enni, il divario aumenta con il 28% per gli uomini e ben il 40% per le donne. Nel 2018 finalmente vi è un piccolo miglioramento (campione fra i 20 e 34 anni) con la riduzione del valore nazionale dal 29,5% al 28,9%; valore che pur sempre quasi doppio della percentuale di NEET per l'Unione Europea (16,5%).

Infine occorre segnalare un'ulteriore stortura del sistema universitario: anche se la spesa dell'Italia per la formazione terziaria rispetto al PIL è modesta rispetto a quella media europea e la percentuale dei laureati è comparativamente

modesta, l'ISTAT<sup>9</sup> sottolinea che vi è stato un forte aumento tra 2013 e 2017 del numero di emigrati diplomati (+32,9%) e laureati (41,8%); nel solo 2017 più della metà dei cittadini italiani che si trasferiscono all'estero (52,6%) è in possesso di un titolo di studio medio-alto: si tratta di circa 33 mila diplomati e 28 mila laureati. Nel gruppo dei “cervelli in fuga” ben il 31,5 sono dottori in scienze fisiche, il 22% in matematica ed informatica, il 16,4% in ingegneri industriale<sup>10</sup>; proprio i laureati in alcuni dei settori più tecnologicamente avanzati.

Inoltre, anche il numero di migranti all'interno dei confini nazionali resta consistente: il flusso di residenti che dal Sud “migrano” verso il Centro-Nord del Paese riguarda per circa la metà persone in età compresa tra i 15 e i 39 anni. Tra le regioni che nel 2017 sono risultate più attrattive spicca l'Emilia Romagna (+2,9 per mille residenti), seguita da Trentino Alto - Adige (+2,7 per mille), Lombardia e Friuli -Venezia Giulia (entrambe +1,8 per mille). Le meno attrattive sono Calabria (-4,2 per mille), Basilicata (-4,0 per mille), e Molise (-3,5 per mille). *I laureati Italiani sono tenuti in alta considerazione dai valutatori internazionali e la loro propensione ad assumerli è elevata, ma se questo è un risultato lusinghiero per i nostri laureati a livello personale, per ciascuno di loro che va a lavorare all'estero il Paese ha una significativa perdita economica, infatti si valuta che il costo medio in Italia sia di 164 mila euro per formare un laureato e 228 mila euro per un dottore di ricerca. È come se regalassimo all'estero decine di migliaia Lamborghini o Ferrari ogni anno senza contropartite! In aggiunta, ogni anno, avviene un depauperamento delle*

---

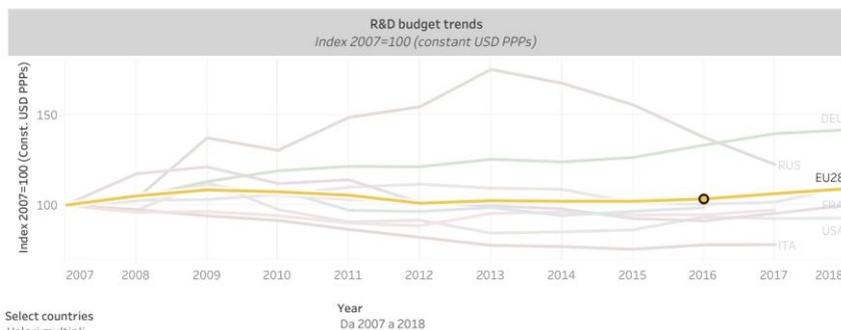
<sup>9</sup> ISTAT “[Report sulla mobilità interna e le migrazioni internazionali della popolazione residente](#)” – Dicembre 2018

<sup>10</sup> ISTAT “Mercato del lavoro” (2015)

regioni del Meridione a favore delle già più ricche regioni del Nord; nel 2016<sup>11</sup> il 68% della spesa R&S era concentrata in cinque regioni (Emilia Romagna, Lazio, Lombardia, Piemonte e Veneto) e la quota riferita alle imprese raggiungeva addirittura il 76,1%.

### **Ricerca e Sviluppo: limiti strutturali**

Nella Fig. 4 sono riportate<sup>12</sup> le evoluzioni dei budget nella Ricerca e Sviluppo (R&S) per i Paesi G8 e per la media dell'UE; purtroppo per l'Italia si rileva un costante decremento (a prezzi costanti 2007) fra il 2007 e 2017, a differenza di quanto avvenuto per gli altri grandi Paesi, solo la Russia è in significativo decremento negli ultimi 5 anni.



Source: OECD estimates based on OECD Main Science and Technology Indicators Database, August 2019.

Fig. 4 Evoluzione del budget in Ricerca e Sviluppo (dati OCSE)

Vi è anche da tener conto che ben 5 nazioni (Italia, Regno Unito, Canada, Francia e USA) hanno tuttora Budget della

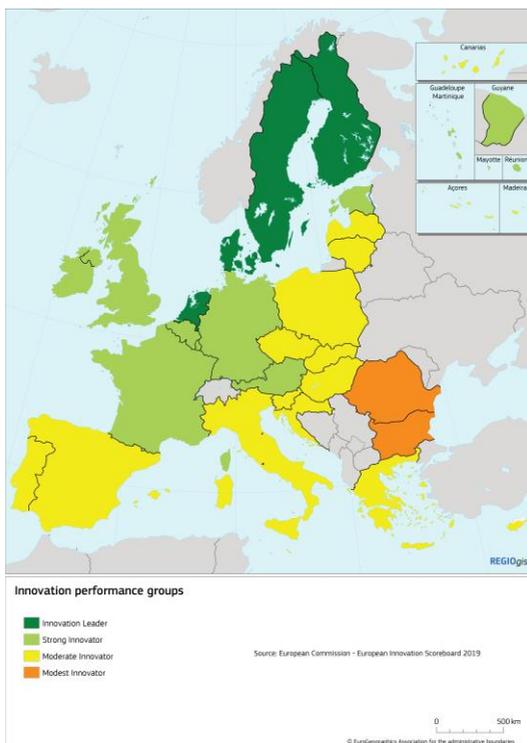
<sup>11</sup> ISTAT "Ricerca e sviluppo in Italia: anni 2017-2019" - 9/IX/2019

<sup>12</sup> OCSE "Main Science and Technology Indicators Database" – Agosto 2019

R&S inferiore al valore del 2007, prima della grande crisi, nonostante siano passati 10 anni.

Quindi gli investimenti in R&S sono ancora troppo bassi; per esempio, nel 2015, l'Italia ha speso € 21,9 miliardi (60% provenienti dal settore pubblico) in R&S, sottolineando che, in controtendenza rispetto agli altri grandi Paesi europei, l'Italia ha la minor incidenza degli investimenti privati nel settore R&S. Per effettuare un confronto con gli altri Paesi europei con dimensione simile alla nostra notiamo che la spesa del Regno Unito raggiunge circa € 30 miliardi (meno del 50% provenienti dal pubblico), la Francia arriva ad una spesa più che doppia rispetto all'Italia con € 48 miliardi (di cui solo il 30% proviene dal pubblico). Risalta in positivo il caso della Germania dove, grazie al deciso impegno degli ultimi governi la spesa pubblica in R&S è passata dai circa € 17 miliardi nel 2005, ai circa € 56 nel 2017, con una crescita progressiva e costante (a prezzi correnti) e, grazie anche il significativo concorso delle imprese, ciò permette alla Germania di avvicinarsi alla soglia del 3% di spesa R&S sul PIL; per un raffronto si tenga conto che il valore di investimenti in R&S in un anno è sostanzialmente equivalente a quanto è stato investito dalla sola regione tedesca del Baden Württemberg (€20,2 miliardi). Per fare un raffronto con le più importanti imprese internazionali (dati 2015), le tre che investono maggiormente in R&S sono: Volkswagen (15,3 miliardi di dollari), Samsung (14,1) e Intel (11,5); dunque ciascuna (ma vale per tutte le 20 al top) investe più della spesa pubblica italiana in R&S e più o meno quanto l'intera spesa R&S delle imprese private italiane.

La Commissione Europea<sup>13</sup> ha interpolato una serie di 10 indicatori ottenendo, come si rileva in Fig. 5, quattro gruppi: Innovatori leader (4 nazioni) con valori molto superiori della performance in innovazione rispetto alla media dei 28 Paesi EU; Innovatori forti (8) con performance comparabile, Innovatori moderati (14) con performance inferiore e Innovatori modesti (2) con performance molto inferiore alla media della performance.



*Fig. 5 Performance nell'innovazione per i Paesi di EU28*

<sup>13</sup> Commissione Europea: "European Innovation Scoreboard 2019", July 2019

L'Italia appare nel terzo gruppo; per l'indicatore "Risorse Umane" (dottorati, popolazione dell'istruzione terziaria e lifelong learning) nel periodo fra 2011 e 2018 ha disinvestito, risultando il quart'ultimo Paese, superata anche dalla Bulgaria (che è un innovatore modesto), ma soprattutto essendo ben largamente superata dalla Spagna che ha avuto una performance di circa il 40%. Invece nell'indicatore "Innovazioni" (innovazioni di prodotto o processo, innovazioni in-house) l'Italia ha ottenuto un significativo miglioramento della performance, migliore della media europea, che la vede classificata in nona posizione; anche per "Assets intellettuali" (brevetti, marchi e disegni applicativi) l'Italia ha un buon trend che le consente di raggiungere la decima posizione. Mentre dolenti note si riscontrano per l'indicatore "Impatti occupazionali" dove l'Italia ha performance ben inferiori rispetto alla media europea.

Nel 2017 i 28 Paesi dell'UE hanno superato i € 300 miliardi per spese in R&S; quasi il 50% in più rispetto al 2006 in cui spesero € 206,5 miliardi; si tratta di un aumento significativo perché avvenuto nonostante un prolungato periodo di crisi ed ha portato la percentuale di spesa in R&S sul PIL dell'EU28 dal 1,74% del 2006 al 2,03% del 2015 (aumento di circa il 17%). Ma le diversità si rilevano nei valori di investimento delle varie nazioni: mentre Austria, Danimarca e Svezia hanno raggiunto o superato la soglia del 3% e Finlandia e Germania sono a valori molto prossimi a tale soglia; gli altri Paesi ne sono lontani, in particolare vi è un'area vicina o superiore al 2% (Francia, Slovenia, Rep. Ceca, Belgio e Olanda), il Regno Unito è al 1,7% e l'Italia, che raggiunge 1,3% (anche a causa di un maggior contributo delle imprese tradizionalmente modesto) è molto lontana dal livello auspicabile e, come visto in

precedenza, è nel terzo gruppo fra gli innovatori europei moderati.

Il recente report dell'ISTAT<sup>14</sup> registra piccoli incrementi della spesa nel comparto, infatti rileviamo: “Nel 2017, si stima che la spesa per R&S *intra-muros* dell'insieme dei settori istituzionali (imprese, istituzioni pubbliche, istituzioni private non profit e università) ammonti a quasi 23,8 miliardi di euro. Rispetto all'anno precedente, la spesa per R&S *intra-muros* aumenta del 2,7% a prezzi correnti e incide in percentuale sul PIL dell'1,38%, registrando un lieve incremento (+0,01 punti percentuali) rispetto all'anno precedente. Il settore privato (imprese e istituzioni non profit) spende per la R&S *intra-muros* 15,2 miliardi di euro, di cui la quasi totalità (14,8 miliardi) sostenuta dalle imprese. Le università spendono 5,6 miliardi di euro, le istituzioni pubbliche 2,9 miliardi. I risultati preliminari 2018 e le previsioni per il 2019 indicano un'ulteriore crescita della spesa in R&S, marcando finalmente un'inversione del trend dopo una troppa perdurante dell'immobilità di questo dato strategico per il futuro del Paese (forse anche per l'inserimento positivo della legislazione sul credito d'imposta per investimenti privati in R&S, specie in collaborazione con gli atenei e gli EPR).

### ***I ricercatori italiani al top***

A fronte di questo panorama sconcertante per quanto riguarda le risorse destinate a R&S ed università, numero di laureati e relativo tasso di occupazione, si riscontra positivamente quello che alcuni commentatori hanno chiamato il "paradosso italiano": pochi, non ben pagati e con scarse risorse per le loro

---

<sup>14</sup> ISTAT “Ricerca e sviluppo in Italia: anni 2017-2019” - 9/IX/2019

ricerche, i ricercatori italiani (sia di ambito universitario, sia di ambito di ricerca) sanno fare il loro mestiere, pubblicano con continuità ed ottengono ottimi risultati nella comparazione con i colleghi degli altri Paesi avanzati.

<b>Rank</b>	<b>Country</b>	<b>Documents</b>	<b>Documents Citations</b>	<b>Cit. per doc.</b>	<b>H Index</b>
1	USA	552.690	352.934	0,64	1.648
2	China	452.877	152.140	0,34	495
3	UK	160.935	111.107	0,69	1.015
4	Germany	149.595	98.852	0,66	887
5	Japan	114.999	51.447	0,45	745
6	India	114.449	34.961	0,31	383
7	France	104.739	64.942	0,62	811
8	Italy	93.064	60.766	0,65	713
9	Canada	88.117	57.605	0,65	794
10	Spain	78.817	47.018	0,60	591

*Fig. 6 – Elaborazione su dati Scimago Journal and Country rank (Scopus database)*

L'Italia è in ottava posizione, come si rileva in Fig. 6, per numero di lavori scientifici, in sesta per numero di citazioni dei lavori prodotti, in terza posizione per numero di citazioni per lavoro ed in settima posizione per il H index. Molto interessante è rilevare che il numero di citazioni per ricercatore, nel periodo 1996-2016, vede l'Italia al prima posizione fra i 10 Paesi al top mondiale per pubblicazioni, come si riporta nella successiva Fig. 7.

Malgrado sia stato recentemente messo in evidenza come in Italia l'uso massiccio della bibliometria nella valutazione della ricerca abbia promosso comportamenti opportunistici da parte

dei ricercatori con un drastico incremento di autocitazioni<sup>15</sup>, questi risultati sono confortanti perché dimostrano che, nonostante la poca considerazione del mondo politico e di gran parte delle imprese per il sistema R&S e nonostante la modestia delle risorse assegnate al mondo della ricerca, i nostri ricercatori riescono a produrre di più dei colleghi stranieri e producono lavori che vengono citati di più e dunque ritenuti importanti dalla comunità scientifica.

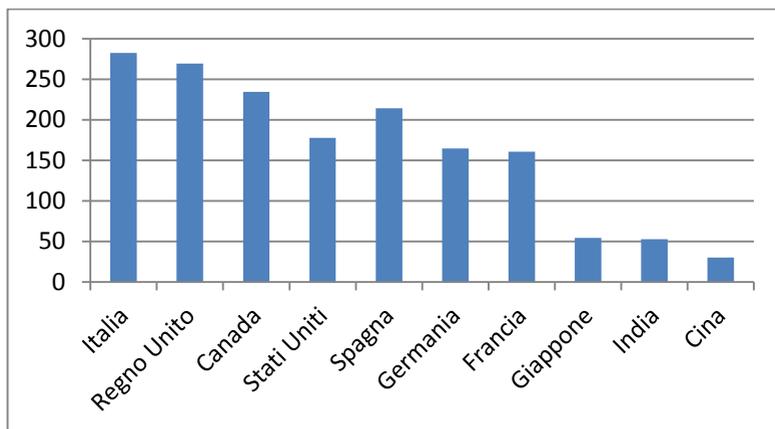


Fig. 7 – Numero di citazioni per ricercatore: i 10 Paesi al top<sup>16</sup>

E' facile capire che il numero non altissimo di pubblicazioni totali è dovuto al fatto che il numero dei ricercatori ("professionisti della creazione di nuova conoscenza, prodotti, processi, metodi e sistemi, capaci di gestire a pieno i progetti in cui sono coinvolti, come veri e propri manager", secondo la definizione di Eurostat) in Italia è modesto; circa 165.000 nel

<sup>15</sup> A. Baccini, G. De Nicolao, E. Petrovich, "Citation gaming induced by bibliometric evaluation: a country-level comparative analysis", PLOS ONE, 09.11.2019

<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/pone.0221212>

<sup>16</sup> Elaborazione autonoma su dati Scimago e OCSE (2018)

2015; se si confronta il numero dei ricercatori per 1000 appartenenti alla forza lavoro (dati OCSE 2013) in Italia si arriva ad appena 4,2 (quart'ultimo Paese dell'Ocse, meglio solo di Polonia, Turchia e Cile); per fare un confronto, la media EU28 è di 7 su 1000, nel Regno Unito arriviamo a 8, in Francia a 9. Peraltro la situazione italiana è aggravata dal blocco degli stipendi che perdura ormai da più di un lustro e dal diffuso impiego di personale precario sia negli atenei, sia negli Enti pubblici di ricerca, anche se negli ultimi due anni vi è stata un'ampia attività di stabilizzazione in ruolo di un significativo numero di ricercatori precari.

Abbiamo già in precedenza sottolineato l'ampiezza del fenomeno dell'espatrio di molti dei nostri giovani laureati dopo aver avuto esperienze scoraggianti nel nostro Paese o immediatamente dopo il conseguimento del titolo a seguito di offerte allettanti, occorre aggiungere che, contemporaneamente, assistiamo all'irritante fenomeno che vede l'Italia versare circa 9 miliardi ai fondi dell'UE per la ricerca e recuperarne, attraverso i suoi gruppi di ricerca, solo i 2/3; per cui un Paese strutturalmente debole sul fronte della R&S, come l'Italia, di fatto finanzia quelli più forti nel contesto dell'EU28 proprio a causa delle sue debolezze (pochi laureati, pochi ricercatori, esiguo numero di giovani nei laboratori pubblici, assenza di programmazione, scarsa cooperazione fra ricerca pubblica e ricerca privata).

### ***Scienze della vita: imprese in crescita***

Anche per le facoltà collegate alle Scienze della vita la problematica della contrazione del numero degli iscritti è stata importante. Non abbiamo modo di trattare tutti i singoli casi, ma accenniamo che per Medicina e chirurgia per l'A.A. 2015-

16 i posti a bando sono stati 9146 rispetto ai 10.083 dell’A.A. precedente (il 9,3 % in meno di disponibilità). Inoltre vi è stata una contrazione anche per i posti per le scuole di abilitazione (circa 4,4 mila a fronte di una richiesta più che doppia), mentre poi sul mercato del lavoro è aumentato<sup>17</sup> a 20-25.000 il numero di medici non attivi e vi sono circa 8.000 precari. Secondo recenti studi oltre cinquemila medici italiani sono emigrati all’estero, in particolar modo in Germania, Francia, Svizzera e Gran Bretagna, attratti da migliori opportunità lavorative. Anche per le facoltà di Farmacia e Chimica e Tecnologie Farmaceutiche vi è stata una discreta contrazione di iscritti e laureati, dopo il boom di inizio secolo, anche perché per i suoi laureati è emerso un significativo problema a trovare lavoro a seguito di vari fattori, fra cui la saturazione del mercato, la scadenza dell’esclusiva di molti farmaci con conseguente diminuzione dei profitti ed il diffondersi del ricorso ai farmaci “generici”; negli ultimi anni, però, stanno emergendo opportunità in settori in crescita quali: cosmetica, nutraceutici, omeopatici ed erboristeria. Invece cresce il numero di iscritti per Ingegneria Biomedica ed il mercato del lavoro è ben ricettivo nei confronti dei neolaureati.

I ricercatori italiani si sono distinti a livello mondiale per la qualità e l’innovatività dei loro contributi nel mondo della ricerca. Vogliamo in merito citare due esempi: nel 2018 la **ASCO** (American Society for Clinical Oncology) ha premiato ben 11 ricercatori italiani (di cui 7 operano all’estero dall’Italia); nel 2018 l’Italia è risultata seconda per il numero di grant aggiudicati nell’ambito del bando ERC (European Research Council), anche se la gran parte dei ricercatori vincitori (27 sui 42 vincitori italiani) hanno opzionato di

---

<sup>17</sup> Dati da Federazione nazionale degli ordini dei medici (Fnomceo)

condurre le proprie linee di ricerche presso istituzioni di altri Paesi europei, piuttosto che in laboratori nazionali. Inoltre è un vanto poter riportare (Fig. 8)<sup>18</sup> che nell'ambito delle pubblicazioni scientifiche i ricercatori italiani si pubblicano al primo posto per citazioni in ambito oncologico ed al terzo posto in ambito medico.

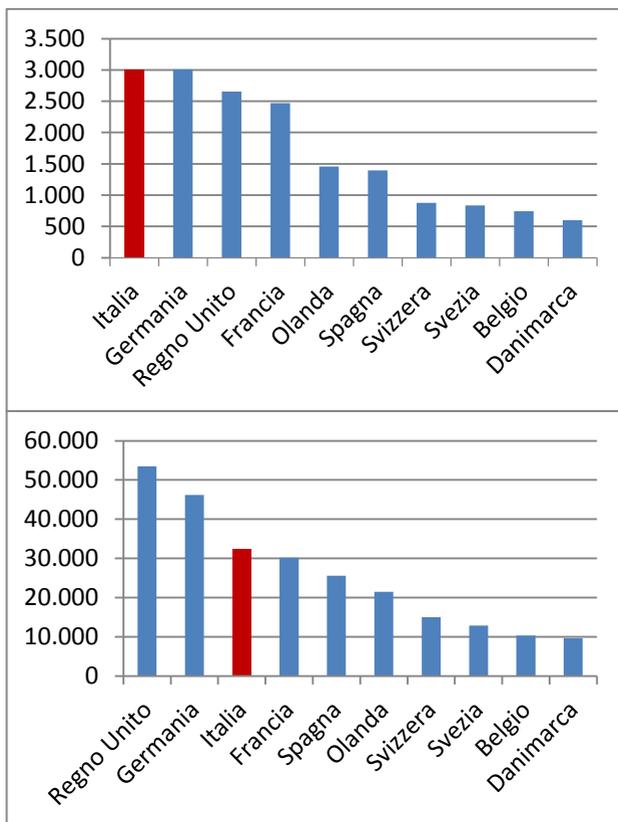


Fig. 8 Numero di citazioni per ricercatore nei campi dell'Oncologia (sopra) e della Medicina (sotto), 2017.

<sup>18</sup> Elaborazione autonoma su dati Scimago (2018))

Il settore delle Scienze della Vita nel nostro Paese ha ormai raggiunto una posizione di rilievo nel panorama produttivo; pur se la maggioranza sono imprese di piccole e medie dimensioni, il comparto riesce ad essere flessibile e capace di adattarsi con un'elevata propensione all'innovazione e capacità a competere sui mercati internazionali. Prendendo in considerazione sia il contributo diretto, sia l'indotto, il comparto delle Scienze della Vita in Italia ha registrato nel 2016 un valore della produzione pari a oltre 207 miliardi di Euro e un valore aggiunto pari a 95,5 miliardi di Euro<sup>19</sup>.

<b>PREVENTIVA</b>	<b>PERSONALIZZATA</b>
Genomica Medicina rigenerativa Nutraceutica	Protesi innovative Bioprinting Radiomica
<b>PREDITTIVA</b>	<b>PARTECIPATA</b>
Imaging avanzato Wearables Test e screening	Teleassistenza E-health

*Fig. 9 Medicina delle quattro P.*

Il comparto delle Scienze della vita si sta evolvendo rapidamente grazie ad un fruttuoso confronto fra la ricerca scientifica e lo sviluppo tecnologico e digitale. Nel futuro ci si aspetta “novità sostanziali all'intero settore e il rapporto tra salute, medicina e tecnologia è destinato ad essere sempre più stretto”. Ma purtroppo scontiamo come Paese una atavica riluttanza ed impreparazione del mondo della ricerca verso la copertura brevettuale, che incide negativamente sullo sviluppo di start-up tecnologiche.

<sup>19</sup> Fonte: Assolombarda, Rapporto n.10/2018.

L'applicazione di sempre nuove tecnologie digitali nel mondo della salute prefigura “la cosiddetta “Medicina delle 4 P” in cui predittività, prevenzione, partecipazione e personalizzazione diventeranno i paradigmi della medicina del prossimo secolo”<sup>20</sup>.

Non si può dimenticare che in valore assoluto gli investimenti in venture capital nel nostro Paese sono ben inferiori rispetto ai paesi competitori; in particolare nel 2017 le biotecnologie e il medicale sono i comparti che hanno ottenuto il maggior numero di investimenti tra i settori ad alta tecnologia. In particolare, come dichiarato nel Rapporto dell'Ambrosetti<sup>21</sup>, il comparto delle Scienze della Vita ha un importante impatto occupazionale che computa 1,7 milioni di addetti per la filiera; “per ogni posto di lavoro generato nei settori/branche di attività che afferiscono alla tecnologia, alle Scienze della vita e alla ricerca scientifica, vengono generati per effetti diretti, indiretti e indotti complessivamente nel sistema economico ulteriori 2,1 posti di lavoro”<sup>22</sup>.

### ***Un piano Straordinario per la Ricerca in Italia***

Il panorama che abbiamo delineato è sconcertante, certo hanno influito il lungo periodo di crisi, l'enorme debito pubblico nazionale che impedisce grandi investimenti, le debolezze strutturali del Paese, la composizione e le vocazioni del sistema produttivo. Occorre dire anche però che, dopo le riforme promosse dal Ministro Ruberti fra fine anni Ottanta ed inizio degli anni Novanta, non vi è più stata una significativa

---

<sup>20</sup> *The European House – Ambrosetti: “ Technology Forum 2018 – Life Science”*

<sup>21</sup> *The European House – Ambrosetti: “ Technology Forum 2018 – Life Science”*

<sup>22</sup> *Elaborazione The European House - Ambrosetti su dati Eurostat, 2017.*

attenzione perdurante negli anni, verso il sistema R&S ed universitario del Paese; anzi la riforma del Titolo V della Costituzione, che ha conferito alle Regioni una vasta gamma di funzioni relative alla ricerca e le relative risorse da assegnare, in molti casi ha aumentato confusione programmatica e ritardi nella spesa a volte non riuscendo a utilizzare tutte le risorse allocate dalla UE.

Sarebbe auspicabile che cittadini, sistema produttivo e forze politiche si rendessero conto dell'importanza strategica per l'Italia di invertire il trend ed iniziare di nuovo ad investire nel sistema R&S e nelle università del Paese e che a questa consapevolezza seguissero azioni precise di riforma. Come abbiamo visto alcuni indicatori negli ultimi due-tre anni hanno mostrato una timida ripresa, questo sono senza dubbio segnali positivi, ma non si intravede un piano strategico che possa rendere i miglioramenti stabili e modificare strutturalmente la situazione.

Come già proponemmo durante il precedente Convegno INBB, è il momento di credere nello sviluppo del Paese, assecondando i primi investimenti promossi negli ultimi anni proprio dalle imprese nazionali:occorrerebbe varare un **Piano Straordinario per la Ricerca** che da una parte permetta un aumento graduale delle risorse economiche ed il reclutamento di giovani ricercatori in particolare sulle linee prioritarie di ricerca stabilite a livello europeo e nazionale e dall'altra incrementi la crescita di più critiche significativi laboratori con nuovi investimenti programmati in infrastrutture e attrezzature di ricerca. In parallelo va promossa la divulgazione e la cultura scientifica, aumentando sia l'accettabilità sociale del lavoro della ricerca pubblica e privata sia la condivisione delle possibili ricadute (anche a lungo termine) in termini occupazionali e di crescita sostenibile del sistema Paese. Un obiettivo ragionevole, graduale e commisurabile con le

migliorate condizioni economiche del Paese potrebbe essere quello **di incrementare di almeno 0,1% all'anno la quota di PIL per il settore della R&S e di 0,1% all'anno la quota per la formazione terziaria**, con un impegno costante di ca 3 Mld per ognuno dei prossimi 3 anni da qui alla fine della legislatura, per continuare nella prossima, per esempio utilizzando i Research-Bond, cioè investimento pubblico fuori dal Patto europeo di Stabilità. Si potrebbe così attuare **l'assunzione di un numero congruente di giovani ricercatori** sia nelle università, sia negli enti di ricerca pubblica e l'aumento significativo **del numero delle borse per il diritto allo studio universitario e delle borse di dottorato di ricerca**, finalizzando quest'ultima figura non alla sola carriera accademica, ma sempre più anche all'inserimento nelle realtà produttive attive in settori innovativi.

Nell'ambito del Piano Straordinario per la Ricerca e, comunque, nell'insieme delle indicazioni di riforma del sistema nazionale vi sono alcuni aspetti, su quali vi è ampio consenso, che devono rapidamente essere affrontati per assicurare caratteristiche di competitività e sviluppo; di seguito li elenchiamo con l'ambizione di suggerire un approfondimento che coinvolga la politica, la comunità scientifica ed il sistema sociale e produttivo nazionale.

- A) Promuovere la **governance del sistema** con caratteristiche di programmazione centrale ed effettivo coinvolgimento della comunità scientifica, per esempio varando finalmente un'Agenzia nazionale, di cui si discute da tempo, in grado di coordinare e ripartire le risorse nelle aree più significative sia scientifiche sia produttive.
- B) **Assicurare un maggior collegamento delle università e degli enti di ricerca con il sistema produttivo, sia attraverso opportuni strumenti di interfaccia (come**

la Fraunhofer Academy, che in Germania gestisce i programmi di formazione professionale per il trasferimento tecnologico), **sia supportando la ricerca cooperativa indirizzata a specifici risultati competitivi, anche incrementando la** soddisfacente esperienza dei Cluster Tecnologici Nazionali nei settori innovativi del Paese e di alcuni Distretti tecnologici di successo.

- C) **Supportare tutte le attività proficue che favoriscono la realizzazione di trasferimento tecnologico nelle aree più promettenti con la creazione di un ecosistema di spin off, laboratori di servizio, nuove imprese che possa naturalmente evolversi con collegamenti opportuni con gli atenei, i centri di ricerca e le imprese, valorizzando così le conoscenze nell'interesse del Paese.**
- D) Favorire tutti gli **strumenti che mobilitano le risorse finanziarie** per far concentrare gli investimenti sulle realtà più promettenti, individuando nuovi paradigmi nell'interfaccia fra realtà finanziarie pubbliche e private ed il sistema che s'impegna a valorizzare le conoscenze con rapida implementazione sul versante del trasferimento tecnologico e delle produzioni innovative.
- E) Avviare con priorità una **revisione dei meccanismi di valutazione della qualità della ricerca**, con il superamento dell'ANVUR (di nomina politica) e della valutazione meramente bibliometrica a favore di un aumento delle competenze in materia del CUN (organo elettivo di rappresentanza del sistema universitario) e di criteri di valutazione basati sulla peer review.
- F) Intervenire rapidamente ed incisivamente sulle pratiche di **snellimento burocratico delle procedure** di assegnazione e rendicontazione dei fondi per la ricerca,

che sono ormai divenute un vero impedimento operativo per le istituzioni pubbliche e private e scoraggiano la partecipazione a nuovi progetti.

- G) Operare gradualmente, ma con convinzione e visione strategica ed integrata, nel **favorire investimenti mirati in R&S nelle regioni del Meridione** per consentire nel tempo una diminuzione del gap esistente con le altre regioni e il serio sviluppo di centri d'eccellenza attrattivi che permettano ai giovani laureati di realizzarsi nel territorio d'origine.

Abbiamo cercato di sintetizzare alcuni degli aspetti valutati da più parti centrali per dare un nuovo rilancio al mondo accademico e scientifico; ci potranno essere diverse sensibilità, diversi criteri di priorità, ma certo il fattore tempo gioca a detrimento per il Paese; bisogna intervenire ed intervenire rapidamente per recuperare le distanze dagli altri paesi competitori e rimettere in funzione l'innovazione e lo sviluppo strategici per il futuro del Paese. Dopo una stagione politica, per fortuna breve, durante la quale alcune forze politiche hanno privilegiato la diffusione dell'odio e della paura piuttosto che affrontare i temi del futuro, come la sostenibilità ambientale e il sistema formativo e di ricerca, è giunto il momento di concentrare gli sforzi sugli obiettivi qualificanti per lo sviluppo economico e sociale del nostro Paese. Ci piace pensare che, anche con un significativo impegno politico per il mondo dell'università e della ricerca, , come indicato nelle intenzioni programmatiche del nuovo Governo, si possa inaugurare un periodo di rinascimento per l'Italia.

**SESSIONE**  
***“Trasferimento Tecnologico e Spin-Off”***

# TECHNOLOGY TRANSFER INNOVATIVE MODELS IN LIFE SCIENCE

*Filippo Surace, CEO, MD, MBA*  
*Cube Labs Srl*

Cube-Labs is a technology transfer platform with a unique business model in the European scenario taking the company to be an Holding Company specialized in Life Sciences. The Company is focusing and developing world class technologies bringing new products to the international markets from the elite of Italian scientific research.

Cube-Labs creates, incubates and accelerates academic spin-offs as well as molecules and technologies in the sector of Life Sciences leveraging its network and exclusive partnership with INBB which allows close and direct contact with over 650 scientists, 24 public universities and major research institutes in Italy and internationally.

Cube-Labs invests directly and controls its own portfolio by creating and developing the spin-offs around innovative R&D projects in the following markets:

- Biotech (Oncology, Orphan disease, Nutraceuticals and Antiaging and Longevity);
- MedTech (IVD, Cardio-Surgery, Dental Care, Dermatology, Personalised Medicine);
- Pharma (with particular focus Oncology);
- E-healthcare and Digit-healthcare (AI solutions and predictive medicine).

Cube-Labs value proposition embraces a trilateral range of activities through deep synergies creating several competitive advantages.

In particular, the Company operates as:

- Incubator of academic R&D, establishing and participating innovative academic Spin-offs;
- Accelerator, by creating a connection between technologies, capital market and final customer
- Technology transfer platform from the “go to market” stage to the ramp-up and growth phase.

## LO SPIN-OFF ADAMAS BIOTECH

***Saverio Bettuzzi***

*Unità INBB di Parma, Dipartimento di Medicina e Chirurgia (DIMEC) Università degli Studi di Parma, Via Volturno, 39 - 43100 PARMA – ITALY; e-mail: saverio.bettuzzi@unipr.it*

Adamas Biotech, azienda italiana del 2018, è un progetto innovativo il cui focus verte sull'uso di sostanze naturali nel settore della cura della salute e della persona. Rientra tra i progetti di incubazione di Cube-Labs, holding di partecipazione e trasferimento tecnologico operante nel settore delle life sciences. Nasce come valorizzazione del lavoro e delle conoscenze del prof. Saverio Bettuzzi (Università di Parma), uniti all'esperienza nel mercato di Cube-Labs srl ed al supporto scientifico dell'I.N.B.B. ADAMAS è una start-up innovativa che intende proporsi prima a livello nazionale per poi espandersi a livello internazionale. Il progetto ruota attorno all'invenzione e alla registrazione di un insieme di prodotti che offrono soluzioni innovative utilizzando sostanze biologiche e naturali, e biotecnologie, per la cura della persona. Si avvale di accordi con partners esterni nazionali ed internazionali e concentra le proprie risorse sullo studio e sviluppo di nuovi prodotti ed applicazioni. In particolare, sfrutterà le proprietà biologiche delle catechine del tè verde negli ambiti: Healthcare (cura dei tumori, cura delle lesioni, tricologia, dermatologia); Nutraceutica (integratori alimentari a scopo terapeutico); Integratori alimentari a scopo energizzante (per lo sport, alimenti); Cosmesi e Anti-Aging (prodotti per la cura del corpo e della pelle, prodotti contro gli effetti delle radiazioni solari). Al momento sono stati ideati e definiti i seguenti prodotti:

1. nutraceutico in capsule a base di catechine del tè verde (mercato consumer e professionale);

2. lozione e crema a base di catechine del tè verde contro i sintomi della psoriasi (mercato healthcare);
3. lozione in soluzione alcolica a base di catechine del tè verde contro l'alopecia e la caduta dei capelli (mercato professionale);
4. integratore a base di catechine del tè verde per alleviare i sintomi dell'ipertrofia prostatica (mercato healthcare e professionale);
5. integratore a base di catechine del tè verde per il miglioramento dell'attività fisica e prestazionale (mercato professionale e consumer);
6. birra a base di tè verde (mercato consumer);
7. unguento per ustioni, ragadi, piaghe da decubito e piede diabetico (mercato healthcare).

Il team è composto da: **Filippo Surace** (C.E.O). Ha conseguito la laurea in Medicina e Chirurgia con il massimo dei voti presso l'Università di Bari, interessandosi all'innovazione dei materiali durante il percorso di specializzazione. Il concetto di innovazione rimane centrale lungo tutto il corso della sua attività formativa e della sua carriera professionale, portandolo a divenire un business innovator nel settore HealthCare; **Ignazio Cogotti** (C.O.O). Anche lui laureato in Medicina e Chirurgia, è un Manager con esperienza pluri-decennale nel settore dell'healthcare maturata nelle migliori multi-nazionali del mercato. In Cube-Labs è responsabile delle attività operative in seno al gruppo e della gestione delle startup e sviluppo dei progetti. Durante la carriera si specializza nei settori Commerciale e Marketing all'interno di multinazionali operanti nei settori dell'healthcare ed affina le sue conoscenze con studi e corsi mirati sia intra-aziendali; **Saverio Bettuzzi** (C.S.O). Ha conseguito la laurea in Biologia, il diploma universitario in Biochimica Marina e il dottorato in Biochimica

presso l'Università di Bologna. È membro del Consiglio di amministrazione dell'Università di Parma, vicedirettore del COMT (Centro per l'Oncologia Molecolare e Traslazionale, Parma) e membro del consiglio di amministrazione dell'INBB (Istituto Nazionale di Biostrutture e Biosistemi, Roma). Adamas Biotech si pone l'obiettivo di mettere a punto i prodotti esistenti e poi di estendere le caratteristiche innovative della materia prima (e di altre) a tutti i prodotti in cui sarà possibile applicarlo. Vi saranno importanti e continui investimenti in Ricerca e Sviluppo (R&D) che avranno lo scopo di potenziare la ricerca in atto e lanciare trial clinici dedicati. Nella prima fase l'azienda punterà a conquistare una posizione remunerativa sul mercato degli integratori e nutraceutici, per poi aggredire quello della sanità pubblica e privata, più specificatamente il canale oncologico e dermatologico. L'azienda nasce con una dimensione nazionale con l'obiettivo di crescere sul mercato internazionale.

## SAFFRON IN NEURODEGENERATIVE DISEASES

*Silvia Bisti*

*Bio Aurum (IIT NetS<sup>3</sup>lab genova; INBB Roma)*

In retinal tissue neurodegenerative processes are induced by a variety of factors: genetic mutations, environmental stresses, aging and combination of them. The final outcome is photoreceptors and/or ganglion cells malfunction and eventually death leading to progressive deterioration of vision. At present there are no cure for the majority of retinal diseases. Recently saffron has becoming an interesting candidate to cope with morphological and functional consequences of retinal neuro-degeneration. Data obtained in both animal models and clinical trials in AMD (age related macular degeneration) and Stargardt patients provided evidence that saffron treatment reduces photoreceptor death, slows down the progression of neuro-inflammatory processes and eventually improves and maintains visual function. The ways of action are complex and not limited to reduce oxidative stress actually saffron treatment activates many genes and eventually might induce “acquired resilience” and counteract dis-metabolic negative events. In addition the chemical composition of saffron components (specifically ratio among crocins) is a critical factor in defining the efficacy of treatment. It has to be noted that retina is part of the central nervous system and retinal functions are often impaired in neurodegenerative diseases like Alzheimer, Parkinson, multiple sclerosis etc. the idea is developing to test saffron treatment in neurodegenerative diseases by evaluating the possibility to slow down its progression mainly acting on neuro-inflammatory events.

Bioaurum spin off will develop next steps in order to support as soon as possible the potential market requirements in the interest of the patients.

## **NUOVO ANALIZZATORE ON-LINE PER LA DETERMINAZIONE DI TOSSINE ALGALI IN ACQUE SUPERFICIALI PER USO POTABILE**

*Sergio Bodini*

*Coordinatore Scientifico, Systea SpA*

La tutela della salute pubblica e la protezione ambientale richiedono il rispetto della qualità biologica e chimica dei corpi idrici. Con l'aumento della pressione demografica e il simultaneo impoverimento delle risorse idriche sotterranee, le acque superficiali, sia da fiumi che da laghi / bacini, saranno sempre più utilizzate come fonte di acqua potabile. Fin dall'antichità, l'invasione di bacini idrici da parte di cianobatteri era riconosciuta come una potenziale catastrofe. Al giorno d'oggi, una serie di segnali allarmanti rende la proliferazione algale una questione sociale sempre più rilevante per la salute umana e le correlate attività economiche e ricreative. Tra di essi: la crescente frequenza dei focolai di proliferazione, la loro comparsa in aree del mondo in cui non erano stati registrati in passato, la loro intensità e durata. È stato d'altra parte riscontrato che quando si verificano fioriture di cianobatteri in acque di sorgente, essi sono poi ritrovati nelle forniture di acqua potabile anche dopo il trattamento di potabilizzazione. L'identificazione tempestiva e affidabile della presenza di microcistine (MC), composti tossici prodotti e rilasciati dai cianobatteri, è perciò diventata un requisito fondamentale nei programmi di monitoraggio delle acque dolci ad uso potabile come strategia di prevenzione del rischio. A conferma di ciò, la maggioranza delle regioni italiane è stata recentemente colpita da fioriture di cianobatteri con ordini di grandezza di popolazioni interessate che supera il milione di abitanti (Lucentini et al., 2014).

L'idea di questo progetto di ricerca è di realizzare un dispositivo completamente automatizzato per analisi on-line di microcistine. Esso consentirà di tenere sotto stretto controllo punti particolarmente sensibili e intervenire tempestivamente per limitare l'insorgere di fioriture algali indesiderate. Gli strumenti biologici molecolari applicati all'identificazione diretta delle biotossine sono più rapidi e più precisi dei metodi convenzionali. Tuttavia, l'integrazione delle tecniche molecolari in un singolo test analitico si traduce in una sfida ambiziosa che richiede un approccio multidisciplinare.

L'immunoanalisi magnetica è una tecnica innovativa di analisi diagnostica che utilizza sferette magnetiche come base di appoggio per immunosensori che sono poi misurati per via colorimetrica.

Un metodo immunologico di ibridazione a sandwich veloce e affidabile per l'identificazione delle microcistine nelle acque, utilizzando un saggio competitivo specifico per ogni classe di tossine, è stato recentemente sviluppato dal Dipartimento di Scienze and Tecnologie Chimiche dell'Università di Roma-Tor Vergata (Petropoulos et al., 2019). È stato possibile eseguire una serie di calibrazioni manuali con standard a concentrazione nota di microcistina-LR nell'intervallo 0.15 – 2  $\mu\text{g} / \text{L}$  ed è stata ottenuta una curva di regressione di tipo sigmoidale.

Durante il presente lavoro, il gruppo di ricerca di Systea SpA, Anagni, Frosinone, ha trasferito il saggio manuale all'interno di un analizzatore robotico di tipo discreto, in modo che tutta la sequenza analitica fosse svolta dallo strumento in maniera completamente autonoma. I seguenti passaggi sono stati automatizzati: campionamento e pre-concentrazione delle cellule contenute nel campione, lisi cellulare, pre-ibridazione delle molecole bersaglio di microcistine con sonda marcata usata come tracciante, cattura con probe marcato immobilizzato su particelle magnetiche e determinazione

colorimetrica immunoenzimatica con 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina.

L'analizzatore sarà inizialmente testato con standard sintetici di microcistine e successivamente programmato per eseguire in sequenza, su campioni reali, la calibrazione e l'analisi degli analiti considerati. L'obiettivo è di dimostrare il potenziale in termini di sensibilità, rapidità ed efficienza di un nuovo strumento on-line con frequenza programmabile di misure, che permetta una diminuzione del consumo di reagenti ed una riduzione del tempo di analisi. Pur essendo stato realizzato per la determinazione di microcistine tossiche, esso sarà estendibile ad altre applicazioni in ambito ambientale basate sulla ibridazione a sandwich.

# ROLE OF SMALL MOLECULES IN THE TREATMENT OF SYSTEMIC SCLEROSIS

*Amato de Paulis*

*Professor of Internal Medicine*

*Director, Division of Autoimmune & Allergic Diseases*

*Department of Translational Medical Sciences*

*University of Naples Federico II*

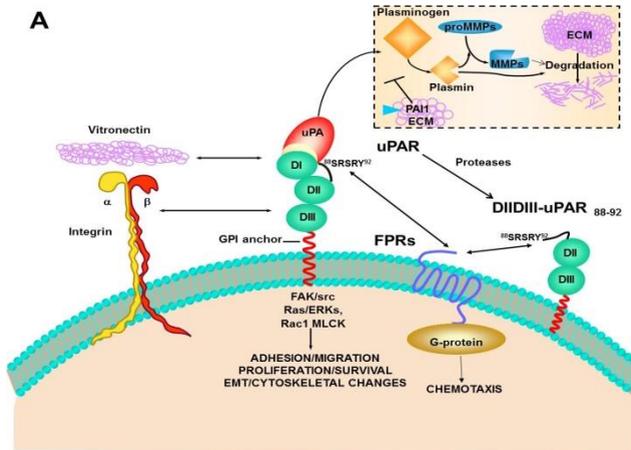
Systemic sclerosis (SSc) is a chronic autoimmune disease characterized by fibrosis, alteration in the microvasculature and immunologic abnormalities. It has been hypothesized that an abnormal redox state could regulate the persistent fibrotic phenotype in SSc patients. N-Formyl peptide receptors (FPRs) are chemotactic receptors overexpressed in fibroblasts derived from SSc patients. We previously demonstrated that stimulation of FPRs promotes the generation of reactive oxygen species (ROS) in skin fibroblasts. In fibroblast cells, ROS production is mediated by FPRs interaction with the urokinase receptor (uPAR) and to  $\beta 1$  integrin engagement. FPRs cross-talk with uPAR and integrins led to Rac1 and ERKs activation. FPRs stimulation increased gp91phox and p67phox expression as well as the direct interaction between GTP-Rac1 and p67phox, thus promoting assembly and activation of the NADPH oxidase complex. FPRs functions occur through interaction with a specific domain of uPAR (residues 88SRSRY92) that can be exposed on the cell membrane by protease-mediated receptor cleavage. Immunohistochemistry analysis with a specific anti-SRSRY antibody showed increased expression of uPAR in a cleaved form, which exposes the SRSRY sequence at its N-terminus (DIIDIII-uPAR88–92) in skin biopsies from SSc patients. As expected by the increased expression of both FPRs and DII-

DIII-uPAR88-92, fibroblasts derived from SSc patients showed a significantly increase in ROS generation both at a basal level than after FPRs stimulation, as compared to fibroblasts from normal subjects.

C6 and C37 are 2 small molecules identified by structure-based virtual screening (SB-VS). These compounds are able to targeted S88 and R91, key residues for uPAR binding to vitronectin, are able in uPAR-transfected HEK-293 cells to stop the activation of signals to ERK and Rac-1, but also to inhibit uPAR interaction with the N-Formyl peptide receptors (FPRs). As a consequence, compounds 6 and 37 impaired cell migration by inhibiting the interaction between uPAR and FPRs. Both compounds are able to block in vitro ECM invasion of several cancer cell types, thus representing new promising leads for pharmaceuticals in cancer. In particular C37, able to inhibit uPAR and FPRs cross-talk by targeting the 88SRSRY92 sequence of uPAR, in the hot-spot residue Arg9 in scleroderma fibroblasts is able to inhibit the FPRs-mediated ROS generation.

More recently, in our laboratory, 40 new small molecules from the two lead compounds (C6 and C37) have been identified and studied. In particular, we have selected 3 interesting small molecules able to inhibit *myc* activation-FPRs mediated and FPRs-uPAR crosstalk thus regulating the most important cell activities such as proliferation, migration and invasion.

Aim of our work is to identify and development novel antifibrotic therapeutic strategies for the treatment of SSc which is characterized by chronic inflammation and fibrosis. Our research group is now involved in the study of new molecules which are also object of patent application and under evaluation through more complete in *vivo* experiments.



# **COLLABORAZIONE FRA UNIVERSITÀ E IMPRESE NELLE LIFE SCIENCE: L'ESEMPIO DEL PROGETTO BIO-ALL**

***Renato Del Grosso***

*Responsabile Market Access CUBE LABS*

Per CUBE LABS fin dalla sua fondazione ha individuato le linee guida che hanno permesso il suo sviluppo e i suoi successi: concentrarsi sulle life science, promuovere un proficuo coinvolgimento degli scienziati nell'ambito del mercato della ricerca attraverso nuove spin-off nate attorno a idee innovative potenzialmente d'impatto commerciale. Il settore delle life science è strategico per il nostro Paese, come giustamente sottolineato dal recente Technology Forum 2018-Life Sciences di Ambrosetti - The European House "le attuali dinamiche di sviluppo che stanno impattando su tutti i comparti (...) aprono opportunità importanti sia in termini di progresso scientifico conseguibile, sia per le prospettive di adesione a catene del valore sempre più "globali" in cui innovazione e sviluppo di nuovi prodotti e terapie trascendono la dimensione del singolo laboratorio".

Uno dei punti nodali per il futuro è proprio nella collaborazione fra università ed imprese nel settore delle Scienze della vita. In più occasioni si sono ricordati: il troppo contenuto investimento in R&S, la difficoltà per gli scienziati di poter accedere a finanziamenti cospicui per i propri laboratori o anche alla collaborazione con le imprese; la modesta presenza di player finanziari che aiutano lo sviluppo dei brevetti.

Su questi fattori in qualche modo CUBE LABS tenta di intervenire positivamente. Anche per questo ha aderito alla proposta, poi finanziata dal Programma EU, che ha dato il via

del Progetto BIO-ALL che coinvolge altre 12 istituzioni, tutte attive nel settore delle scienze della vita. L'obiettivo del progetto è quello di aumentare tutte le opportunità per favorire una proficua collaborazione fra università ed imprese con il target di costruire un ecosistema composto da atenei, imprese e acceleratori d'innovazione che si sviluppino in modo armonioso e di successo. Già sono stati conseguiti alcuni risultati iniziali (un ampio data-base in ciascun paese cui aderiscono autorevoli attori delle scienze della vita, un piano operativo per condurre al meglio il progetto nei prossimi tre anni di lavoro, alcune eventi d'incontro e discussione sui temi fondanti per il progetto stesso. Per i prossimi mesi, fra i risultati più importanti che BIO-ALL permetterà di ottenere ci saranno: il **corso post-laurea Internazionale** su "Competenze avanzate per l'innovazione e l'imprenditorialità nel settore BIOHEALTH", che offrirà opportuni moduli formativi ed opportunità di visita e apprendistato; il **Programma internazionale di accelerazione congiunta**: "BIOHEALTH Gear Box Business Accelerator", per supportare le capacità innovative e di crescita delle piccole imprese spin-off e la costruzione del hub online (**Rete Virtuale per imprenditori e innovatori nel settore BIOHEALTH**) collaborativo per favorire dinamiche aperte di innovazione e processi di collaborazione

## **HYBRID SPATULA & PURPLE CODE LO SPIN-OFF RESCUE CODE**

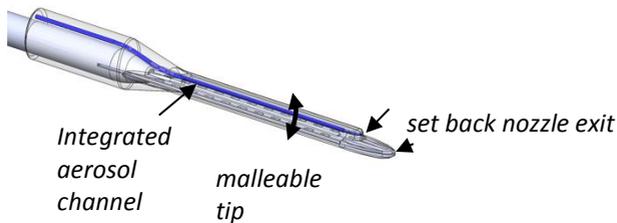
***Massimo Massetti***

*Direttore Area Cardiovascolare, Policlinico Universitario A. Gemelli*

Abbiamo incoraggiato la realizzazione di uno spin off insieme con Cube Labs ed il Consorzio interuniversitario INBB poiché riteniamo strategico operare nei prossimi anni sul versante degli strumenti e le metodologie innovative in ambito medico chirurgico ed in particolare nell'ambito della lotta alle malattie cardiovascolari. L'ambizione che abbiamo, in collegamento con colleghi nazionali, è di mettere a frutto l'esperienza sviluppata nella ricerca scientifica e durante gli anni di pratica clinica per realizzare innovazioni che potranno dimostrare significativi risultati a favore dei pazienti.

In particolare, Rescue Code opera nei settori della ricerca, sviluppo, progettazione, sperimentazione, produzione e successiva commercializzazione di prodotti, dispositivi e soluzioni unici ed innovativi nei settori della cardiocirurgia, medicina d'urgenza e cardiologia interventistica.

La prima tecnologia che ora stiamo portando alla brevettazione è denominato "Hybrid spatula" e consiste in un elettrobisturi monopolare di innovativa concezione che permette di associare al potere dell'elettrocoagulazione monopolare un idro-jet fluido che potenzia gli effetti dello strumento. I benefici attesi sono quelli di una dissezione più accurata e veloce, una riduzione della dispersione termica e un abolizione dei fumi tossici.



I risultati dei test in-vitro ed in vivo conferiscono a questa innovazione un potenziale significativo nel miglioramento dei risultati clinici. La sua applicazione a numerosi campi delle chirurgie open ed endoscopiche sono garanzie del potenziale di diffusione come dispositivo medico con le conseguenti ricadute commerciali.

Sono in studio altre metodologie e strumenti che appaiono potenzialmente molto promettenti; fra queste vogliamo citare la “resuscitation “ che, grazie ad una tecnologia extracorporea di supporto cardiocircolatorio e un percorso rianimatorio pluridisciplinare ha già consentito di salvare la vita di pazienti che avevano subito un arresto cardiaco e le cui condizioni vitali sono state recuperate nonostante il carattere refrattario delle terapie convenzionali.

## LO SPIN-OFF LUMINA NANO-BIOTECH

*Martina Zangheri<sup>1</sup>, Maria Maddalena Calabretta<sup>1</sup>, Donato Calabria<sup>1</sup>, Aldo Roda<sup>1,2</sup>*

*<sup>1</sup>Department of Chemistry “Giacomo Ciamician”, Alma Mater Studiorum – University of Bologna, Via Selmi 2, 40126 Bologna, Italy*

*<sup>2</sup>Consorzio Interuniversitario “Istituto Nazionale Biostrutture e Biosistemi”, V.le Medaglie D’Oro, Roma, Italy*

Lumina Nanobiotech is an Academic spinoff focused on the development of portable biosensors suitable for performing analytical tests outside centralized laboratory, for both medical diagnostic (control and monitoring of specific biomarkers) and environmental or agro-food applications.

The technology proposed by Lumina Nanobiotech combines innovative platform based on specific molecular recognition reaction (e.g. immunoassay, DNA hybridization, cell-based approach) with luminescence detection principles including photoluminescence, bio-chemiluminescence (BL, CL) and thermochemiluminescence (TCL). The biosensor format is properly designed and optimized to achieve ultrasensitive methods for the quantification of the target analyte present in sub-molar quantity. These systems are then implanted and integrated with a simple portable instrumentation with highly miniaturized accessories and microfluidics. Thermally cooled CCD camera or CMOS photcamera of the smartphone can be used as a compact and low cost detector. Indeed, new generation of smartphones camera, allows to detect even weak light signals and few amount of the target analyte. Furthermore, smartphone integrates some facilities like customized applications for the elaboration of the images, WiFi connectivity, geo-tagging, cloud computing, allowing to store

the data and to share the analysis results in real time with specialists that can promptly intervene. Lumina Nanobiotech boasts a broad portfolio of smartphone-based biosensors suitable for performing the entire analytical process directly on-site. In particular, we proposed several analytical devices for monitoring health status which are suitable for measuring biomarkers in oral fluid (cortisol), blood (cholesterol), urine (human serum albumin) and sweat (lactate). Those systems are based on paper technology, which have attracted much attention thanks to its low cost, portability, ease-of-use and eco-friendly materials. In this context, one of the most employed format is that based on the Lateral Flow Immunoassay (LFIA), which is well known for the pregnancy test. We adapted this system to CL smartphone-based detection in order to obtain a quantitative information combined with very simple protocols that can be performed directly at the point-of-need. The same approach was exploited also for the design and development of portable biosensors for applications in agro-food and environmental field for the detection of mycotoxins' contaminations. Another innovative technology proposed by Lumina Nanobiotech, is represented by the use of an easy-to-use cartridge containing genetically engineered cell cultures that are able to express luminescent signals according to their vitality. Luminescent signals are detected using a smartphone camera and the obtained images are elaborated with a dedicated App for determining toxic and pro-inflammatory activity of different kind of sample, finding applications in the environmental, agri-food, nutraceutical and cosmetic fields. The more actual approach is based on TCL probe which allows to realize reagent less device thus facilitating the development of simple instrumentation particularly suitable for developing country rural area. As an alternative to luminescence detection, simple and cheap

reflectometric-based chemosensor were designed for the analysis of both watery and organic matrices making them particularly attractive for applications in nutraceutical, food (e.g. oils) and industrial (e.g. fuel and biofuel) fields.

The products offered by Lumina nanobiotech are sophisticated but user-friendly, extremely small and thanks to the integration with smartphone, they can be used in a wide range of situations: at home, in first aid departments, in containment departments for infectious diseases, in ambulances, in military centers, on cruise ships or in areas where an accident has occurred. Moreover, the market opportunity in healthcare is huge and the possibility of using smartphone for mobile health is estimated to grow significantly in the next few years.



***SESSIONE***  
***“Ambiente: priorità strategica e non  
procrastinabile”***

# EFFETTO DEI PLASTIFICANTI SUL METABOLISMO E RIPRODUZIONE DI ORGANISMI ACQUATICI

*Isabel Forner-Piquer<sup>1,2</sup> and Oliana Carnevali<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Università Politecnica delle Marche, Via Brecce Bianche,  
60131 Ancona (Italia)*

*<sup>2</sup>Institut de Génomique Fonctionnelle, 141 rue de la  
Cardonille, 34094 Montpellier (France)*

La plastica consiste in un mix di polimeri ai quali vengono aggiunti i plastificanti, che intercalando tra la matrice polimerica conferisce a questa proprietà come il colore, maggiore resistenza alle alte temperature o una maggiore elasticità.

Il principale problema ambientale nell'utilizzo dei plastificanti sta nel fatto che non sono legati chimicamente alla matrice, perciò in seguito ad erosione, abrasione o modificazioni chimiche, possono essere liberati in acqua ed entrare a contatto con l'ambiente circostante incluse le specie ittiche. Esistono diverse tipologie di plastificanti, nei nostri studi ci siamo focalizzati sugli effetti del **di-isononil ftalato** (DiNP) e del **bisfenolo A** (BPA).

Il di-isononil ftalato è prevalentemente utilizzato nella produzione di PVC. Negli ultimi anni, il DiNP ha suscitato interesse poiché come sostituto di un altro ftalato, il bis 2-etilhexilftalato o DEHP (conosciuto per i suoi effetti negativi sul sistema riproduttivo), ha fatto registrare un forte aumento nel suo utilizzo.

L'altro contaminante preso in esame, il BPA, fu sintetizzato per la prima volta nel 1891, questo è utilizzato comunemente nella produzione del policarbonato. Già nel 1930 il ricercatore Edward C.

Doods, individua per la prima volta le proprietà estrogeniche del BPA. Sia il DiNP sia il BPA hanno la capacità di alterare il funzionamento del sistema endocrino e per questo classificati come “interferenti endocrini”.

Nei nostri lavori, abbiamo studiato l’effetto del DiNP e del BPA sulla riproduzione e sul metabolismo lipidico di zebrafish (*Danio rerio*) un organismo modello e nell’orata (*Sparus aurata*), una specie ittica frequente nella nostra dieta ed allevata per lo più in Mediterraneo. I nostri due modelli sperimentali sono stati esposti a dosi ambientali dei due inquinanti. Nello zebrafish, l’esposizione è avvenuta via acqua, mentre per l’orata, via dieta.

A livello epatico, sia il BPA che il DiNP hanno alterato il metabolismo lipidico, modificando i livelli degli enzimi coinvolti nella produzione di trigliceridi ed acidi grassi ed in generale con il sistema endocannabinoide. Di conseguenza, l’analisi istologica del fegato ha evidenziato presenza di steatosi epatica negli organismi esposti a plastificanti rispetto al controllo. Inoltre l’accumulo di grasso ha determinato modificazioni morfologiche delle cellule epatiche, che dalla tipica forma esagonale si sono trasformate in cellule sferiche. Tutto ciò è stato confermato dall’analisi di spettroscopia che ha evidenziato un maggior accumulo di grasso nei campioni trattati con DiNP e BPA rispetto al controllo.

A livello gonadico, nello zebrafish il DiNP ha causato una riduzione del GSI (Gonadosomatic Index), inoltre ha indotto un’alterazione della fertilità come indicato da una significativa riduzione del numero di uova fecondate nei campioni trattati rispetto ai non trattati. Nell’orata invece il DiNP ha avuto conseguenze negative nella maturazione degli spermatozoi e nei livelli ematici di estrogeni e testosterone.

**Questi risultati portano a concludere che il BPA e il DiNP, in entrambi organismi modello utilizzati nei nostri studi,**

**sono in grado di alterare il metabolismo lipidico e i processi riproduttivi confermando quindi la loro capacità di interferire con il sistema endocrino, in particolare alterando il sistema endocannabinoide.**

# **L'IMPORTANZA DEGLI ORGANISMI BIOINDICATORI: LA LUCERTOLA PODARCIS SICULA COME ESEMPIO DI BIOINDICATORE TERRESTRE**

*Vincenza Laforgia*

*Dipartimento di Biologia, Università di Napoli Federico II*

Lo sviluppo di tecnologie industriali ed un comportamento non rispettoso dell'ambiente hanno condotto ad una alterazione delle risorse naturali e ad un continuo rilascio nell'ambiente di inquinanti di varia natura, tra i quali moltissime sostanze mutagene e dannose per la salute umana. Tra i composti più diffusi nell'ambiente figurano pesticidi, droghe ed un gruppo di sostanze chiamate Distruttori Endocrini (EDC). L'immissione di queste sostanze nell'ambiente causa gravi danni agli ecosistemi sia acquatici che terrestri ed un aumento delle patologie. I contaminanti possono essere immessi nell'ambiente dalle attività industriali e dalle attività antropiche sia tramite l'emissione di fumi che tramite scarichi non corretti nei corpi idrici e nell'aria. A tal scopo per valutare gli effetti degli inquinanti sui viventi è opportuno studiare per ogni ambiente un organismo di riferimento che funzioni da bioindicatore. La presenza, l'assenza o variazioni nel comportamento del bioindicatore possono essere elementi utili per la valutazione delle condizioni ambientali e delle possibili ripercussioni anche sulla salute umana. Relativamente all'ambiente terrestre i rettili vengono considerati per la loro vasta distribuzione geografica e per la facile reperibilità ottimi "bioindicatori". Questi organismi hanno, inoltre, la caratteristica di poter bioaccumulare e biomagnificare gli inquinanti allo stesso modo degli uccelli e dei mammiferi

(Fossi et al. 94). Sono stati utilizzati per lo studio degli effetti nocivi causati da diversi composti come pesticidi, EDC, o metalli pesanti. Tra i Rettili per la sua diffusione ubiquitaria, in particolare nel nostro territorio, la lucertola *Podarcis sicula* può essere considerata un ottimo bioindicatore, è facile da catturare e si adatta a vivere in laboratorio. Le principali ghiandole endocrine e l'apparato riproduttore sono i bersagli di elezioni delle sostanze inquinanti. In particolare in *Podarcis sicula* si è visto che sia i pesticidi che gli EDC influenzano l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene/tiroide interagendo, a seconda dell'inquinante studiato, o stimolando il metabolismo ghiandolare o inibendolo. In esemplari maschi di lucertola è stata rilevata nel plasma la presenza della vitellogenina, proteina presente solo nelle femmine, ed è stata indotta la sua espressione nel fegato I pesticidi, in particolare, possono agire sui testicoli determinando un forte decremento degli spermatozoni con conseguente riduzione del numero degli spermatozoi. Causano anche la diminuzione del livello degli ormoni sessuali e dei loro recettori. In *Podarcis* è stato anche dimostrato che alcuni pesticidi sono in grado di determinare effetti genotossici L'insieme di tutti questi dati ci permette di avere un quadro complessivo dei danni provocati dagli inquinanti e ci fa ritenere la lucertola *Podarcis sicula* un ottimo bioindicatore.

# **IMPIEGO DELLE PIANTE PER LA RIMOZIONE DI PESTICIDI ED INTERFERENTI ENDOCRINI DAL SUOLO**

*Elisabetta Loffredo*

*Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli  
Alimenti, Università degli Studi di Bari Aldo Moro*

Malgrado l'evidente urgenza di orientarsi verso un'agricoltura ecocompatibile che garantisca il mantenimento dei cicli biogeochimici dei nutrienti e la diversità microbica del suolo, sono ancora largamente diffuse pratiche di coltivazione intensiva che apportano al suolo quantità non trascurabili di xenobiotici organici ed inorganici. L'uso ripetuto ed eccessivo di pesticidi, l'irrigazione con reflui non decontaminati, l'apporto di liquami e fanghi di depurazione e l'incorporazione di biomasse di scarto non opportunamente selezionate e trattate creano i presupposti per la contaminazione del suolo con progressiva perdita di qualità e fertilità. Anche l'attività industriale e civile e lo smaltimento di rifiuti e reflui urbani ed industriali sono fonti di inquinamento del suolo. Diverse tecniche basate su processi fisici, chimici e biologici vengono impiegate per abbattere il livello dei contaminanti nel suolo prima che essi entrino nella catena alimentare con gravi conseguenze sulla salute umana ed animale.

Tra le pratiche idonee a disinquinare il suolo, vi è la fitorimediazione (PHY) che consiste nell'uso di organismi vegetali, piante ed alghe, e dei microrganismi a loro associati, per l'assorbimento, la trasformazione, la volatilizzazione e la stabilizzazione di inquinanti nei sistemi naturali o antropizzati, in particolare agricoli, quali suolo, sedimenti e acque. La PHY, molto efficace per rimuovere composti organici e metalli pesanti, è favorevolmente accolta dalla comunità essendo essa

una pratica semplice, a costi ridotti (10-50 €/m<sup>3</sup>), ecosostenibile, capace di migliorare le proprietà fisiche, chimiche e biologiche del suolo nonché l'estetica del paesaggio.

Numerose specie vegetali erbacee, arbustive ed arboree, tra cui *Portulaca oleracea*, *Populus spp*, *Salix spp*, *Cannabis sativa* e molte altre, presentano sia una buona tolleranza agli inquinanti che una notevole capacità di assorbire e degradare pesticidi ed interferenti endocrini, IPA, PCB, antibiotici. Interventi di PHY del suolo possono essere realizzati *in situ* o *ex situ*, *in vivo* o *in vitro* a seconda del livello e tipo di contaminazione e della specie vegetale impiegata. Anche la componente organica del suolo, sia nativa che introdotta con l'ammendamento, può condizionare il successo della PHY poiché, se da un lato promuove sia indirettamente che direttamente la crescita delle piante, essa può competere con le piante per la notevole capacità adsorbente dei contaminanti.

Negli ultimi anni, numerosi studi hanno riguardato l'impiego di piante appartenenti ai generi *Agropyron*, *Lolium*, *Festuca*, *Trifolium*, *Cucumis*, *Raphanus*, *Cannabis* ed altre per la rimozione di pesticidi, quali linuron, metalaxil-M, metribuzin, e noti interferenti endocrini, quali bisfenolo A (BPA), ottilfenolo (OP), nonilfenolo (NP), etinilestradiolo (EE), beta-estradiolo (E2). Tali piante hanno mostrato un'elevata capacità di PHY già a partire dalla fase di germinazione e prima crescita. L'indagine sui meccanismi di PHY ha evidenziato un ruolo apprezzabile della componente enzimatica presente negli essudati radicali, quali perossidasi e laccasi, che a sua volta è influenzata dalla sostanza organica del suolo. Una specie particolarmente efficiente per la PHY è la *Cannabis sativa* che ben si adatta a diverse condizioni pedoclimatiche ed è stata impiegata con successo per disinquinare il suolo da metalli pesanti, diossine e PCB, vedasi l'esperienza recente realizzata

su suoli contaminati da diossina e metalli pesanti in aree prossime alle acciaierie ex ILVA di Taranto. Uno studio tuttora in corso nei nostri laboratori prevede l'uso della *Cannabis* per il contenimento dell'inquinamento del suolo da pesticidi, tra cui metalaxil-M e metribuzin, ed interferenti endocrini quali BPA, E2, ed OP applicati sia singolarmente che in miscela. I primi risultati ottenuti dimostrano una notevole capacità di questa pianta di assorbire e degradare il BPA ed il metalaxyl-M già nel corso della germinazione e prima crescita. Tale capacità inoltre resterebbe inalterata nel corso della crescita delle piante anche in presenza di contaminazione multipla ed in suolo ammendato con compost o biochar.

## **TECNOLOGIE PER IL MONITORAGGIO E LA SALVAGUARDIA DEI CETACEI**

**Alberta Mandich** <sup>1,2,3</sup> **and Biagio Violi** <sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> *Dipartimento di Scienze della Terra, dell’Ambiente e della Vita (DISTAV) – Università di Genova*

<sup>2</sup> *INBB – Consorzio interuniversitario Istituto Nazionale Biosistemi e Biostrutture – Sez. Genova*

<sup>3</sup> *CIRCE – Centro Interuniversitario Ricerca Cetacei*

<sup>4</sup> *Associazione Menkab, il respiro del mare - Savona*

Il depauperamento progressivo delle risorse marine a causa della pressione antropica dovuta principalmente all’urbanizzazione delle coste, al turismo, alla massiccia immissione di contaminanti persistenti e plastiche, al traffico marittimo, alle indagini geosismiche ed impiego dei sonar, alla pesca intensiva, è particolarmente evidente in un mare semi-chiuso come il Mediterraneo, ed è ancora più preoccupante a causa della sinergia con cui questi fattori intervengono. I Cetacei costituiscono una componente importante della biodiversità marina e sono considerati specie sentinella dello stato di salute globale del mare, grazie alla loro sensibilità alle variazioni ambientali ed alla loro posizione al vertice delle reti trofiche. Rivestono dunque una notevole importanza ecologica, e vanno salvaguardati per accrescere la tutela dell’ecosistema di cui fanno parte. I cetacei non limitano la loro presenza alle acque territoriali di un singolo Paese, per cui la loro tutela è un impegno che va assunto a livello internazionale selezionando i corretti metodi di monitoraggio ed applicando le conoscenze acquisite per l’elaborazione di piani di conservazione.

Un sistema di monitoraggio diversificato in base alle specie ed alle competenze (metodi di foto-identificazione, survey da piattaforma fissa, uso dell’acustica, applicazione di tag

satellitari, analisi ecotossicologiche su materiale biotico da esemplari *free ranging* e/o spiaggiati, studi immunologici, analisi genetiche, ecc.), pianificato e condiviso a livello internazionale può fornire informazioni cruciali sulla distribuzione dei cetacei, sull'uso dell'habitat, demografia e livello di connettività con aree adiacenti. Assicurarsi che le popolazioni non siano isolate è uno dei punti fondamentali da chiarire sull'ecologia di queste specie, onde evitare processi di innesco del vertice dell'estinzione e che si compromettano i delicati equilibri degli ecosistemi marini. Le specie di cetacei che frequentano regolarmente il Mediterraneo sono otto, la Balenottera comune appartiene al sottordine dei Mysticeti, tutte le altre, Tursiope, Stenella striata, Delfino comune, Zifio, Globicefalo, Grampo e Capodoglio rappresentano famiglie diverse di Odontoceti. Tutte sono inserite come specie meritevoli di una particolare protezione all'interno di Direttive, Convenzioni e Accordi di carattere internazionale per la protezione degli habitat, delle specie e della biodiversità. Il capodoglio (*Physeter macrocephalus* = *P. catodon*, L. 1758) è il più grande predatore vivente. Secondo i parametri della Lista rossa (IUCN, Red List), questa specie è considerata "Vulnerabile" a livello mondiale, ma "Minacciata" a livello del Mediterraneo. Vari Autori hanno confermato come numerosi impatti di origine antropica (es. reti derivanti, inquinamento acustico, plastiche, collisioni) stiano via via causando un continuo declino del numero di individui maturi mettendo a serio rischio lo stato della popolazione nel Mediterraneo. Il progetto di genetica di popolazione condotto in collaborazione con Enti e Università nazionali ed internazionali, ha come obiettivo principale quello di chiarire la struttura di questa popolazione all'interno del bacino del Mediterraneo. A questo scopo sono stati genotipizzati 160 campioni raccolti in 7 aree mediterranee (Fossa ellenica in Grecia, Mar Adriatico, Mar

Tirreno, Mar Ligure, Sardegna, Baleari, Mare di Alboran) e 4 adiacenti atlantiche (Nord della Spagna, Azzorre, Canarie, Madeira), al fine di valutare fra queste flusso genetico, demografia, rapporti di parentela e variabilità genetica. La metodologia di *Rad sequencing (Restriction site Associated DNA)* ha permesso di ottenere 15000 SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*) utili a chiarire il livello di connettività tra le diverse aree considerate. I risultati preliminari hanno escluso una divisione tra i bacini occidentale ed orientale all'interno del Mediterraneo e riconfermato la divisione tra le aree mediterranea e atlantica. Ulteriori analisi saranno condotte nei prossimi mesi modo da ottenere un quadro chiaro del flusso genico di questa popolazione che sta affrontando diverse minacce.

# **BIOTECNOLOGIE PER LO SFRUTTAMENTO DI BATTERI SIMBIONTI NEL CONTROLLO DI INSETTI VETTORI DI MALATTIE**

***Riccardo Moretti***

*ENEA, Divisione Biotecnologie e Agroindustria*

*Wolbachia* è un batterio endosimbionte presente nei tessuti dell'apparato riproduttore di circa il 50% delle specie note di insetto ed è protagonista di vari fenomeni di regolazione dell'ospite che portano ad avvantaggiare la fitness degli individui infettati promuovendo quindi anche la propria diffusione nelle popolazioni naturali. Uno di questi fenomeni, l'Incompatibilità Citoplasmica, si manifesta come mortalità embrionale nel caso di accoppiamenti tra un maschio ed una femmina che siano portatori di due ceppi diversi del batterio o nel caso che il maschio sia infettato e la femmina non lo sia. *Wolbachia* può essere trasferito da specie a specie tramite tecniche di microiniezione embrionale e, nel caso di compatibilità del nuovo ospite, viene trasmesso dalle femmine a tutta la propria progenie.

Nell'ottica di sfruttare questo fenomeno per i fini del controllo di insetti nocivi, abbiamo sostituito i due ceppi di *Wolbachia* naturalmente presenti nella zanzara tigre (*Aedes albopictus*) con un ceppo dello stesso batterio ottenuto dalla zanzara comune (*Culex pipiens*) utilizzando delle tecniche di micromanipolazione e microiniezione embrionale. Maschi e femmine della nuova linea così ottenuta, AR<sub>w</sub>P, risultano tra loro compatibili e producono quindi uova fertili consentendo l'allevamento in laboratorio. Gli incroci tra i maschi AR<sub>w</sub>P e le femmine selvatiche della zanzara tigre risultano invece nella produzione di uova assolutamente sterili divenendo quindi un potenziale strumento di controllo delle capacità riproduttive

della specie. I maschi ARwP possono quindi essere allevati massalmente in laboratorio e poi rilasciati periodicamente in campo per ridurre nel lungo termine il numero di zanzare tigre presenti nell'area trattata. Questo impatto a livello numerico ha come diretta conseguenza una riduzione significativa del rischio che la specie possa trasmettere le pericolose malattie (Dengue, Zika, Chikungunya, Febbre Gialla) di cui è potenziale vettore.

Questo approccio di lotta alla zanzara tigre è stato già validato con successo in laboratorio ed in sistemi sperimentali confinati in condizioni climatiche naturali. Dall'estate 2018 è inoltre iniziata una sperimentazione in campo aperto a Roma a seguito di specifica autorizzazione ricevuta dal Ministero dell'Ambiente. I risultati ottenuti ci hanno convinto a ripetere quest'anno la sperimentazione e hanno attratto l'interesse di investitori per portare l'approccio a livelli di produzione industriali.

*Wolbachia* può essere protagonista anche di un'ulteriore strategia di controllo della zanzara tigre. Altri ceppi dello stesso batterio sono infatti in grado di ridurre in modo significativo le capacità degli insetti di veicolare virus ad RNA (tra questi sono inclusi tutti i virus citati in precedenza). In modo analogo a quanto fatto con il ceppo di *Wolbachia* che induce sterilità, un ceppo di *Wolbachia* che è noto avere queste proprietà (ottenuto dal moscerino della frutta *Drosophila melanogaster*) è stato quindi introdotto nella zanzara tigre ottenendo la linea ARwP-M che è risultata non essere più in grado di trasmettere i virus di Dengue, Chikungunya e Zika. Test specifici per monitorare la stabilità della nuova infezione negli anni ed il mantenimento delle proprietà utili descritte sono tutt'ora in corso per valutare l'opportunità di proporre una strategia di lotta alle zanzare tigre non più solo basata sulla riduzione del numero di insetti ma anche sulla sostituzione

delle zanzare residue con individui non più in grado di trasmettere malattie. Sperimentazioni analoghe sono già in corso in varie zone del mondo con l'obiettivo di combattere altre specie di zanzare vettrici di importanti patologie.

Visto l'alto numero di ceppi di *Wolbachia* con proprietà sfruttabili per fini utili, le tecniche biotecnologiche sviluppate sulla zanzara tigre si prestano ad essere esportate anche su altre specie di insetti di interesse sia sanitario che agrario. Questa strategia di modificazione biologica risulta essere alternativa ad approcci di modificazione basati sia su raggi gamma o x sia su transgenesi o editing genomico ed è caratterizzata da un minor costo d'investimento, da un'efficacia in genere maggiore e da una maggior garanzia di ecocompatibilità e sostenibilità nel lungo termine.

# **MICROPLASTICHE NEGLI ORGANISMI MARINI: DISTRIBUZIONE, EFFETTI E RISCHI LUNGO LE RETI TROFICHE**

***Francesco Regoli***

*Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università  
Politecnica delle Marche, Ancona*

La produzione di plastica è aumentata esponenzialmente negli ultimi decenni e le stime sulle quantità finite in mare sono allarmanti. Le microplastiche (MP), frammenti inferiori ai 5 mm che derivano in gran parte dalla lenta frammentazione degli oggetti più grandi, rappresentano oggi la preoccupazione maggiore in termini di ingestione ed effetti sugli organismi marini. La ricerca scientifica sta cominciando a svelare attraverso quali vie le MP possono interagire con le componenti cellulari e determinare l'insorgenza di effetti imprevedibili fino a pochi anni fa. Il recente progetto Ephemare, finanziato da JPI-Oceans, ha contribuito a un significativo avanzamento delle nostre conoscenze sul destino ambientale, la distribuzione e il trasferimento trofico delle MP, l'adsorbimento e il rilascio di sostanze chimiche, i potenziali effetti tossicologici e i meccanismi d'azione di queste particelle. Ephemare ha testato un'ampia selezione di modelli biologici, appartenenti a diversi livelli trofici e stadi vitali, esposti a condizioni sperimentali diverse in termini di classi dimensionali, forme e tipologia di MP. Le analisi sulle risposte biologiche hanno incluso endpoint di tossicità tipici derivanti da sopravvivenza, tasso di crescita, comportamento, successo riproduttivo, sviluppo embrionale e larvale, fisiologia energetica e metabolismo, mentre a livello cellulare e molecolare sono state investigate le risposte immunitarie, lo stress ossidativo, neurotossicità e biotrasformazione,

metabolismo lipidico e proliferazione perossisomiale, genotossicità ed effetti endocrini. I risultati principali hanno evidenziato che tutte le specie, dal plancton ai predatori terminali, possono ingerire MP sia in laboratorio che in condizioni naturali, ma il tasso di assorbimento, la potenziale traslocazione tra diversi tessuti, e le cinetiche di escrezione sono fortemente influenzate dalla dimensione e dalla forma delle MP. La presenza delle MP negli organismi marini è stata quantificata nelle principali reti trofiche del Mediterraneo, Oceano Atlantico, Mare del Nord e Caraibi, risultando ubiquitarie e con una frequenza media di ingestione pari a circa il 25% degli organismi campionati. Per quanto riguarda gli effetti tossicologici, le MP non hanno evidenziato risposte acute nel breve termine, ma anomalie comportamentali ed alterazioni nella performance riproduttiva sono comparse in invertebrati e nei pesci in condizioni di esposizione cronica. La capacità delle MP di legare e rilasciare sostanze chimiche dopo l'ingestione è stata valutata in numerose condizioni sperimentali risultando un processo difficile da generalizzare, e che dipende dalla tipologia dei composti, dal tempo di contatto e dalle caratteristiche dei polimeri. Per quanto riguarda la biodisponibilità degli inquinanti adsorbiti alle MP, queste particelle possono agire come vettori di sostanze inquinanti, in seguito ad ingestione e contatto con microplastiche contaminate. Allo stesso tempo, le MP sono in grado di modificare l'organo-tropismo, la distribuzione tissutale e la compartimentalizzazione sub-cellulare delle sostanze chimiche. Le modalità di assorbimento, trasferimento e tossicità delle MP rimangono in gran parte sconosciuti, ma esperimenti mirati hanno rivelato l'influenza della "dimensione" e della "forma" delle particelle su questi processi. I meccanismi molecolari e cellulari coinvolgono prevalentemente le risposte del sistema immunitario, e in misura minore lo stress ossidativo.

Nonostante l'assenza di alterazioni cellulari gravi, le MP possono modulare le risposte cellulari delle sostanze inquinanti attraverso l'interazione tra effetti fisici e chimici. Inoltre, l'elevata suscettibilità del sistema immunitario non esclude possibili compromissioni dello stato di salute degli organismi in condizioni croniche e suggerisce la necessità di investigare il possibile effetto delle MP sulla sensibilità degli organismi verso altri fattori di stress ambientale.

**SESSIONE**  
***“Metabolismo e stili di vita: fattori  
chiave per un healthy living and ageing”***

# PHYSICAL ACTIVITY AND MALE HYPOGONADISM

***Mario Maggi***

*Endocrinology Unit, Department of Experimental and Clinical Biomedical Sciences “Mario Serio”, University of Florence, Florence and Istituto Nazionale Biostrutture e Biosistemi, Rome, Italy.*

Metabolic Syndrome (MetS) is a cluster of clinical conditions, associated to an increased cardiovascular and metabolic risk, along with hypogonadism (HG) and erectile dysfunction (ED). Lifestyle modifications (including physical exercise, PhyEx) are well-known treatments for this condition. In particular, in clinical trials PhyEx was able to ameliorate ED and increase T levels. Mechanisms underlying beneficial effects of PhyEx on MetS-associated HG has not been clarified. We previously established a rabbit model of MetS that recapitulates the human phenotype, including HG and ED. We now report studies on the effect of PhyEx on hypothalamus-pituitary-testis (HPT) axis and penile relaxation (as a readout of erectile dysfunction). We used a non-genomic, high-fat diet (4 % peanut oil, and 0.5 % cholesterol)-induced rabbit model of MetS (HFD rabbit). Rabbits fed a regular diet were used as controls (RD). RD and HFD rabbits were exercise-trained to run on a treadmill for 12 weeks (RD + PhyEx and HFD+ PhyEx). HFD rabbits showed typical metabolic and CV features of MetS along with hypogonadotropic HG (reduced testosterone (T) and LH) and a reduction of androgen-dependent tissue weights (prostate and seminal vesicle). Immunostaining for GnRH was reduced in the HFD preoptic area of the hypothalamus. In addition, genes related to inflammation (COX2, IL6, CD68), glucose metabolism (GLUT1, GLUT4, IRS-1), estrogen action (ER $\alpha$ ,

GPR30) were increased in the hypothalamus of HFD rabbits. Genes coding for inhibitory factors for GnRH were also increased, as NPY and prodynorphin. Within the testis, the MetS condition down regulated, in a stepwise fashion, all the steroidogenic enzymes leading to T synthesis, along with an increase in fibronectin expression. PhyEx completely restored T and LH plasma levels, prostate weight and GnRH immunostaining, doubling its gene expression in the preoptic area. All the aforementioned HFD-induced increase in genes related to inflammation, estrogen signaling and glucose metabolism in the hypothalamus were significantly reduced in HFD+ PhyEx, along with a decrease in MCP-1 and its receptor (CCR2), TNF $\alpha$  receptor and GLUT3, with the exception of IL6. In the hypothalamus, PhyEx increased Kiss 1 and decreased orexigenic and GnRH-inhibiting factors (dynorphin and its receptors OPRD1 and OPRK1), whereas increased anorexigenic ones (POMC). Kiss1 receptor immunostaining, decreased by HFD, was restored by PhyEx. Within the testis, genes related to T formation (17 $\beta$ HSD3) and metabolism (5 $\alpha$ -reductase 1) were increased by PhyEx, while fibronectin expression was normalized. Accordingly, PhyEx increased the ratio of androstenedione to testosterone concentration within the testis, which resulted downregulated by HFD. Corpora cavernosa (CC) strips from HFD rabbits showed a hyporesponsiveness to acetylcholine (Ach) and electrical field (EF) stimulation. In addition, sildenafil action on EF- or sodium nitroprusside-induced relaxation was also impaired in HFD CC. PhyEx reverted all these alterations. In CC extracts, several genes related to NO formation (DDAH1) and signaling (GCSa1, GCSb1, PDE5, PKG) were up-regulated by PhyEx, along with those involved in smooth muscle differentiation (SM22,  $\alpha$ SMA) and androgen action (AR, STAMP2).

In conclusion, in this experimental model, endurance training (PhyEx) completely reverted MetS-induced hypogonadotropic hypogonadism and erectile dysfunction, having beneficial effects on the HPT axis and on the penis. In the hypothalamus PhysEX reduced HFD-induced inflammation, in the testis reduced fibrosis and in the penis allows better relaxation and response to sildenafil. Hence, aerobic exercise training can be considered an interesting strategy to combat MetS-associated hypogonadism and ED.

# **NUTRIENTI, GENI E SINDROME METABOLICA: RUOLO ONCOLOGICO**

**Antonio Moschetta**

*Università degli Studi di Bari*

La nutrigenomica studia gli effetti che gli alimenti hanno all'interno delle nostre cellule e l'influenza del cibo nel modificare l'espressione genica. Non significa che gli alimenti alterano il nostro Dna, ma che alcuni nutrienti possono, su lungo periodo, modificare l'attività di un gene, cioè la sua espressione, cambiando la sua capacità di produrre proteine. Se un gene è più o meno espresso si modifica la produzione (che può aumentare o ridursi) delle proteine che dipendono da questo gene, per esempio gli enzimi che regolano il metabolismo, con conseguenti cambiamenti nel modo di digerire grassi o carboidrati.

Le malattie tumorali oggi giorno rappresentano un'emergenza sanitaria e necessita quindi la ricerca di nuove strategie di prevenzione e cure.

Cambiamenti nello stile di vita e nelle abitudini alimentari stanno acquisendo sempre maggior rilievo quali approcci efficaci e a basso costo per ridurre il rischio di cancro.

Ad esempio, nel caso del tumore del colon, anche se da un lato non si può escludere una componente di rischio di tipo ereditario, dall'altro numerosi studi clinici suggeriscono l'importanza dell'alimentazione nell'insorgenza di tale patologia.

Una dieta ricca in grassi e proteine animali, ma povera in fibre, rappresenta uno dei maggiori fattori di rischio in quanto promuove un elevato accumulo di colesterolo e acidi biliari.

Quindi l'alimentazione non solo può garantire lo stato di salute dell'organismo, ma far sì che le terapie funzionino meglio. Ma

il concetto fondamentale che si vuole trasmettere è che lo stato di salute dell'organismo è alla base della capacità di prevenire e curare meglio i tumori. L'alimentazione corretta deve far sì che un tumore trovi difficoltà a crescere in un organismo.

Visto l'enorme ruolo della dieta, della sedentarietà e dell'obesità nel causare un aumento dell'incidenza per alcuni tumori come mammella, colon e prostata ed il ruolo dell'obesità nel ridurre la capacità di cura del tumore a parità di stadio e di terapia, nel corso della lettura saranno presentate le ipotesi e le motivazioni scientifiche del rapporto tra stile di vita, nutrizione e tumori puntando l'attenzione su un dato certo: i nutrienti non possono curare il cancro, ma certamente possono garantire uno stato di salute per far sì che l'organismo si ammali di meno e in presenza di una eventuale malattia sia in grado di curarsi in misura più elevata.

# **DNA-BASED NANODEVICES FOR THE DETECTION OF DIAGNOSTIC ANTIBODIES**

***Francesco Ricci***

*Chemistry Department, University of Rome, Tor Vergata,  
Rome, Italy- francesco.ricci@uniroma2.it*

Nature has invented a number of tricks and strategies by which the behaviour of proteins and other biomolecular machines can be finely controlled. These highly optimized and evolved mechanisms allow to control biological pathways with different chemical and environmental stimuli and are at the basis of the high specificity and selectivity of biomolecular machines.

Motivated by the above arguments we have characterized and recreated in-vitro several mechanisms to control the response of DNA-based nanodevices for diagnostic and drug-delivery applications. Using these mechanisms we can finely control the activity of DNA-based nanodevices with different chemical and environmental stimuli including pH, antibodies, enzymes, small molecules and electronic inputs.

I will present an overview of the most representative and recent examples developed in our lab in the above research directions focusing on examples of DNA-based nanodevices controlled by antibodies for diagnostic and drug-delivery application.



***SESSIONE***  
***“Alimenti funzionali, Tecnologie  
Agroalimentari, Nutraceutici”***

# **IL RUOLO DEL MICROBIOTA NEL MANTENIMENTO DELLA SALUTE ED INTERAZIONI DELLA FLORA BATTERICA CON NUTRACEUTICI**

***Patrizia Brigidi***

*Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie*

*Università di Bologna*

L'uomo, come tutti gli esseri viventi del pianeta, inclusi animali, pesci, insetti e piante, è definito oggi come olobionte, cioè un macroorganismo che vive in stretta associazione simbiotica con comunità microbiche complesse, date da batteri, funghi e virus, chiamate microbioti. In particolare, il microbiota che colonizza il tratto gastrointestinale umano è uno dei più complessi, in termini di concentrazione, composizione e attività funzionali. Oltre a costituire una barriera competitiva contro l'invasione e colonizzazione di enteropatogeni, il microbiota intestinale esplica una serie di attività funzionali che impattano sull'omeostasi energetica e immunitaria nonché sulla modulazione della funzione neurologica ed endocrina dell'ospite, avendo così un ruolo determinante per la sua salute. Il recente impiego di tecniche di sequenziamento massivo del genoma complessivo del microbiota, il microbioma, ha consentito di caratterizzare non solo la sua diversità filogenetica, cioè i gruppi microbici presenti e le loro specifiche abbondanze relative, ma anche di identificare e annotare diversi geni microbici che codificano funzioni biochimiche e metaboliche non codificate dal genoma dell'uomo. L'uso integrato di altre tecnologie omiche, quali la metabolomica, ha permesso di identificare metaboliti microbici che, prodotti a livello locale, possono avere anche un'azione

sistemica, grazie al circolo enteroepatico e al nervo vago. È stato così dimostrato che circa il 10% dei metaboliti ematici derivano dal metabolismo del microbioma intestinale. Ogni essere umano ha un suo corredo altamente individuale di microrganismi, acquisito alla nascita, che persiste per tutta la vita subendo perturbazioni che possono essere anche molto rapide e profonde.

Diversi infatti sono i fattori che influenzano il profilo e l'attività funzionale del microbioma, tra cui la dieta, l'assunzione di farmaci e l'età. Un'alterazione del microbioma caratterizzata da compromessa stabilità e ridotta biodiversità, definita disbiosi, è stata correlata ad una serie di patologie oncologiche, metaboliche, cardiovascolari e dello sviluppo. Ad oggi non è noto se la disbiosi rappresenti la causa o l'effetto di tali patologie, ma la rimodulazione del microbioma per ripristinare un profilo eubiotico è un approccio preventivo e terapeutico che si persegue, in modo sempre più personalizzato, mediante modificazioni della dieta, somministrazione di probiotici e prebiotici, e trapianto fecale. In questa ottica, i nutraceutici, sostanze naturali bio-attive componenti della dieta con effetti benefici per la salute nella prevenzione e riduzione del rischio di specifiche condizioni patologiche, hanno destato un forte interesse anche per quanto riguarda la loro interazione con il microbiota intestinale. È stato infatti dimostrato che processi di biotrasformazione operati dal microbiota sono indispensabili per l'attivazione, l'assorbimento e la biodisponibilità di diversi nutraceutici. Ad es., flavonoidi, isoflavonoidi, lignani, ellagitannini e stilbeni non sono attivi nella loro forma primaria, ma, per esercitare i loro effetti estrogenici/anti-estrogenici, antiossidanti, anti-infiammatori e anti-proliferativi, devono essere modificati da specie microbiche intestinali. La biodisponibilità dei polifenoli, molto abbondanti nella dieta mediterranea, aumenta

considerevolmente per azione del microbiota, mentre la loro frazione non assorbita impatta sul mantenimento di un corretto equilibrio dell'ecosistema intestinale, favorendo lo sviluppo di gruppi health promoting (*Bacteroides* e *Akkermansia*) e inibendo la crescita di patobionti (*Eubacterium* e *Bilophila*). Analogamente, flavonoli e loro esteri non assorbiti inibiscono la crescita di diversi patogeni intestinali quali *E. coli*, *Salmonella*, *Pseudomonas*, e *Clostridium*. Omega -3 e -6 supportano la crescita di batteri butirrato-produttori, gli antociani promuovono lo sviluppo di Bacteroidetes e Actinobacteria, mentre i flavonoidi influiscono sullo sviluppo di *Akkermansia* e, grazie ad un loro effetto antimicrobico, hanno un'azione protettiva contro batteri patogeni, funghi and virus. Nonostante queste evidenze estremamente positive, nella prospettiva di una nutrizione/medicina personalizzata, sono comunque necessari ulteriori studi per una più robusta e approfondita comprensione del ruolo del microbiota sull'efficacia dei nutraceutici.

**IL CONTRIBUTO DELLE NUOVE  
TECNOLOGIE AGRO-ALIMENTARI NELLA  
QUALITÀ, SOSTENIBILITÀ E VALORE  
AGGIUNTO NUTRIZIONALE-SALUTISTICO  
DI ALIMENTI E SOSTANZE  
BIOLOGICAMENTE ATTIVE**

*Francesco Capozzi, , Eleonora Urbinati, Gianfranco Picone,  
Mattia Di Nunzio, Pietro Rocculi, Silvia Tappi, Alessandra  
Bordoni*

*Alma Mater - Università di Bologna, Centro  
Interdipartimentale di Ricerca Industriale Agroalimentare  
(CIRI-AGRO, Campus di Cesena)*

*francesco.capozzi@unibo.it*

Un numero sempre crescente di molecole bioattive con effetti benefici sulla salute sono continuamente identificate negli alimenti, seppure a concentrazioni generalmente inefficaci per curare malattie, sufficienti però a prevenirle. Per potenziare questo aspetto, l'industria alimentare dedica sempre più sforzi per lo sviluppo di nuovi alimenti, a partire da ingredienti funzionali arricchiti con sostanze bioattive. In questo caso, la matrice alimentare in cui è incorporato il bioattivo gioca un ruolo determinante nell'effetto finale, ad esempio influenzandone la bioaccessibilità e la biodisponibilità. Tuttavia, è anche vero il contrario, e cioè le caratteristiche degli ingredienti funzionali possono alterare le proprietà reologiche, sensoriali e di stabilità della matrice in cui la componente addizionata viene dispersa. Chiaramente un alimento non può essere considerato come una miscela omogenea di molecole, nutrienti e molecole bioattive, ma è costituito da fasi eterogenee che creano compartimenti in cui sono confinate le

interazioni tra substrati ed enzimi. Questa restrizione spaziale alla libera diffusione delle molecole può cambiare durante la conservazione e la maturazione del cibo. Le tecnologie alimentari adottate per la trasformazione industriale delle materie prime, soprattutto quelle più recenti a maggiore risparmio energetico, puntano a ridurre l'impatto dell'operazione tecnologica sulla composizione finale dei nutrienti e delle molecole ad alto valore aggiunto, intervenendo con precisione sulla matrice. Tuttavia, poco è noto sugli effetti associati alla natura delle alterazioni che si vengono a creare quando si progettano nuove formulazioni, sia perché questi studi richiedono ingenti risorse quando svolti in vivo, ad esempio gli studi di digeribilità e assorbimento, sia perché mancano gli indicatori e gli strumenti accessibili per misurarli. Questi aspetti saranno trattati durante la presentazione con alcuni esempi pratici e la proposta di possibili soluzioni.

# ATTIVITÀ NUTRACEUTICA DI LATTOFERRINA, OVOTRANSFERRINA E LORO DERIVATI

**Francesco Giansanti**<sup>1-2</sup>

<sup>1</sup>*Dipartimento di Medicina clinica, sanità pubblica, scienze della vita e dell'ambiente-MESVA- Università dell'Aquila.*

<sup>2</sup>*“Istituto Nazionale Biostrutture e Biosistemi”- Consorzio Interuniversitario. ROMA*

Lattoferrina ed Ovotransferrina sono delle glicoproteine leganti il ferro, appartenenti alla famiglia delle Transferrine. La lattoferrina è una delle proteine più rappresentative presenti nel latte dei mammiferi ed in particolare in quello umano. Inoltre è stata ritrovata anche in molti tessuti e cellule di origine epiteliale oltre che nei granulociti neutrofili. E' stata ritrovata in varie specie di mammifero come uomo, bovini, capre, cavalli, cani e diversi roditori.

La Lf è una glicoproteina del peso molecolare di 80 kDa e di circa 700 aminoacidi (711 aa nell'uomo Lf (hLf) e 689 aa per la bovina Lf (bLf) con un alto grado di omologia tra le diverse specie. La sua struttura tridimensionale consta di una singola catena polipeptidica ripiegata in due lobi simmetrici distinti (C ed N-terminale) che tra loro hanno un'alta omologia (33-41% a seconda delle specie).

L'Ovotransferrina (Otrf) appartiene anch'essa alla famiglia delle transferrine ed è implicata nel trasporto del ferro e in attività protettive.

In aggiunta alle sue ben note attività antibatteriche, l'Ovotransferrina possiede altre attività protettive simili a quelle della lattoferrina. Queste attività aggiuntive non dipendono dal legame con il ferro ma vengono esplicate tramite peptidi derivanti dall'idrolisi parziale

dell'ovotransferrina suggerendo una correlazione diretta tra il consumo alimentare di uova e la salute umana.

La scissione proteolitica della lattoferrina (umana o bovina) e della Ovotransferrina porta alla generazione di diversi peptidi, la maggior parte dei quali manifesta l'attività protettiva della rispettiva proteina integra. Questi peptidi possono anche essere prodotti naturalmente nell'intestino umano dopo l'ingestione di latte o uova (preferibilmente crude o cotte a bassa temperatura).

In conclusione Lf e Otrf, così come i loro frammenti peptidici, potrebbero migliorare la salute umana e potrebbero avere un ruolo nutraceutico e protettivo nella salute umana.

**Keywords:** Transferrine, Lattoferrina, Ovotransferrina, Peptidi, Nutraceutica.

## **METABOLISMO CARDIACO E CATECHINE DEL TÈ VERDE**

*Federica M. A. Rizzi*

*Università di Parma, Dipartimento di Medicina e Chirurgia*

Il muscolo cardiaco si contrae senza sosta dalla nascita alla morte, adattandosi rapidamente a situazioni di aumentata attività fisica o emotiva che richiedano un aumento della frequenza e della forza di contrazione. L'incessante lavoro contrattile necessita di continuo apporto energetico, soddisfatto attraverso un metabolismo aerobico estremamente flessibile nell'uso dei substrati. Oltre il 95% dell'ATP consumato dal miocardio è prodotto nei mitocondri, attraverso il processo della fosforilazione ossidativa (OXPHOS).

In soggetti affetti da diabete di tipo II, la cardiomiopatia diabetica insorge indipendentemente da cause vascolari, ed è accompagnata da uno squilibrio nell'utilizzo dei substrati energetici che impatta sull'efficienza funzionale del mitocondrio, aumentando il consumo di ossigeno, la produzione di radicali liberi e riducendo l'accoppiamento del trasporto degli elettroni con l'OXPHOS. Tutto questo rende il mitocondrio un target cellulare rilevante per lo sviluppo di molecole atte a prevenire la cardiomiopatia diabetica. Il tè verde è una bevanda di amplissima diffusione nelle popolazioni del lontano oriente, contenente elevate concentrazioni di catechine, una famiglia di polifenoli (flavan-3-oli) cui si attribuiscono attività antitumorali e cardioprotettive, sebbene la maggior parte degli studi pubblicati si riferiscono ad esperimenti in vitro, ed utilizzano concentrazioni di catechine non raggiungibili fisiologicamente. Ciò impone estrema cautela nell'interpretazione dei risultati, e nella possibilità di trasferimento degli stessi a modelli in vivo.

Attraverso studi condotti in ratti sani abbiamo indagato l'effetto della somministrazione a lungo termine di un estratto standardizzato di catechine del tè verde (GTE) e del suo principale componente epigallo-catechina-3-gallato (EGCG), sulla funzionalità contrattile del cuore. In parallelo, abbiamo eseguito misure biochimiche e molecolari per definire gli effetti di GTE ed EGCG sul mitocondrio e su proteine coinvolte nei processi di eccito-contrazione.

I risultati ottenuti hanno evidenziato che sia GTE che EGCG esercitano effetti positivi sulla funzionalità mitocondriale dei cardiomiociti, producendo un aumento dell'ATP intracellulare, della respirazione basale e della massima velocità di consumo di ossigeno. Questi effetti sono attribuibili ad un aumento dell'espressione/attività dei complessi dell'OXPHOS, senza aumento della massa e della biogenesi mitocondriale. Sebbene la contrazione dei cardiomiociti sia strettamente dipendente da ATP, indispensabile per l'interazione dei filamenti di actina e miosina e per i meccanismi di recupero del  $Ca^{2+}$  dal citosol, i nostri dati evidenziano che solo GTE esercita effetti positivi sulle proprietà meccaniche dei cardiomiociti, aumentandone la frazione di accorciamento, la velocità di contrazione e quella di rilasciamento. Coerentemente, solo GTE esercita un effetto positivo sull'attività della  $Ca^{+2}$ -ATPasi sarcoplasmatica SERCA2, riducendo l'espressione della proteina inibitrice fosfolambano (PLB), aumentandone la fosforilazione, aumentando il rapporto SERCA2/PLB e p-PLB/PLB.

I risultati fin qui ottenuti evidenziano che GTE e la sua principale catechina EGCG, in vivo e a concentrazioni non rischiose per la salute, aumentano la funzionalità mitocondriale e la produzione di ATP. Il dato è rilevante anche in termini di potenzialità traslazionale della ricerca, in considerazione del fatto che numerose cardiopatie sono precedute da inefficienza mitocondriale. Abbiamo chiarito che gli effetti inotropi positivi

di GTE sui cardiomiociti devono essere mediati da una molecola diversa da EGCG, o perlomeno che è necessaria la combinazione di tutte le catechine dell'estratto per produrre l'aumento dell'attività di SERCA2 che giustifica, almeno in parte, gli effetti meccanici misurati. Future sperimentazioni saranno rivolte a esplorare gli effetti cardioprotettivi del GTE in modelli di ratto diabetico.

# NUTRACEUTICI E RIDUZIONE DEL RISCHIO CARDIOVASCOLARE: RUOLO DEI RECETTORI NOTCH

**Paola Rizzo**

*Dipartimento di Morfologia, Chirurgia e Medicina Sperimentale e Laboratorio delle Tecnologie delle Terapie Avanzate, Università di Ferrara, Maria Cecilia Hospitals, Cotignola*

Nonostante le terapie attualmente disponibili, il 30% dei decessi in tutto il mondo è dovuto a malattie cardiovascolari la cui causa primaria è l'aterosclerosi, un disturbo infiammatorio caratterizzato dall'accumulo di depositi lipidici all'interno delle pareti delle arterie. Studi *in vitro* e nei modelli animali di tali patologie hanno mostrato che alcune classi di nutraceutici potrebbero prevenire e rallentare la progressione dell'aterosclerosi ma i risultati di studi clinici evidenziano che non è sempre possibile ottenere questi effetti protettivi nell'uomo. Tale discrepanza sembra non solo dovuta alla scarsa biodisponibilità dei nutraceutici e/o al numero limitato di soggetti inclusi negli studi clinici, ma anche alla diversa risposta a queste sostanze nei diversi gruppi studiati, pertanto una conoscenza dettagliata dei meccanismi molecolari regolati dai nutraceutici potrebbe essere necessaria per identificare quei soggetti in cui queste molecole possano prevenire e/o limitare efficacemente la progressione dell'aterosclerosi. Studi recenti hanno mostrato che l'effetto protettivo di alcune classi di nutraceutici è in parte dovuto alla capacità di modulare i recettori Notch. Il ruolo dei recettori Notch nella regolazione del differenziamento delle cellule staminali è ben noto e studi negli ultimi trent'anni hanno mostrato che alterazioni di Notch sono anche implicate nell'insorgenza e nella risposta alle

terapie dei tumori. Più recentemente è emerso che questa via di segnalazione è importante per prevenire la disfunzione endoteliale e per regolare le funzioni di altri tipi cellulari coinvolti nell'insorgenza e nella progressione dell'aterosclerosi, come macrofagi e cellule muscolari lisce. La via segnalazione di Notch è costituita da quattro recettori (Notch 1-4) e cinque ligandi (Delta-like 1-3 e Jagged 1, 2) e il suo output varia in base a quali recettori e/o ligandi sono presenti e al contesto cellulare. Lo studio dettagliato di come specifici nutraceutici agiscono sui componenti della via di segnalazione di Notch potrebbe condurre a trattamenti nutraceutici personalizzati per la riduzione del rischio cardiovascolare.

## **CIOCCOLATO E CACAO: GUARDARE OLTRE**

***Manuela Rizzoli***

*Responsabile R&D health food Coswell*

*Istituto Erboristico l'Angelica*

Il cacao, da sempre conosciuto come alimento edonistico e spesso associato ad un profilo nutrizionale sbilanciato per via del prodotto derivante dalla sua lavorazione, il cioccolato, sta, negli ultimi anni vedendo la nascita di numerosi studi e sta catalizzando l'attenzione sugli aspetti funzionali e i benefici che i suoi componenti possono avere sulla popolazione.

I benefici salutistici del cacao sono dovuti alla ricchezza di sostanze positive tra le quali si possono annoverare metilxantine, sostanze con effetto sui neurotrasmettitori, e, in particolar modo i polifenoli. I flavanoli hanno un effetto positivo sulla stimolazione della produzione, sia attraverso meccanismi diretti che indiretti, del mediatore della vasodilatazione NO.

L'ossido nitrico, grazie alla sua azione vasodilatatoria, ha un favorevole effetto sul benessere cardiovascolare attraverso diversi meccanismi d'azione quali: dilatazione dei vasi sanguigni, riduzione dell'aggregazione piastrinica, prevenzione della formazione di placche aterosclerotiche e azione antiossidante, tutte queste azioni concorrono ad una dimostrata significativa riduzione della pressione arteriosa. Questi benefici sulla irrorazione dei tessuti si ripercuotono chiaramente anche sulle funzioni cerebrali, inoltre i flavanoli del cacao sono in grado di superare la barriera emato-encefalica, sono stati localizzati in aree importanti per apprendimento e memoria.

Partendo dai benefici funzionali del cacao e volendoli veicolare all'interno di un prodotto, abbiamo sviluppato un cioccolato a

partire da una particolare specie di cacao (il criollo); questo cioccolato, oltre ad essere privo di zuccheri aggiunti, è caratterizzato da un alto contenuto in cacao; rappresenta perciò una fonte di flavanoli e un'importante matrice per lo sviluppo di integratori alimentari grazie all'aggiunta di sostanze funzionali particolarmente adatte a questo scopo.



***SESSIONE  
POSTER  
GIOVANI RICERCATORI***

# APPLICAZIONI IN CAMPO DEL METODO MICRO BIOLOGICAL SURVEY PER LA SICUREZZA MICROBIOLOGICA DI FONTI D'ACQUA NEI PAESI IN VIA DI SVILUPPO

*Alyexandra Arienzo<sup>1</sup>, Francesca Losito<sup>2</sup>, Ottavia Stalio<sup>1</sup>,  
Lorenza Murgia<sup>1</sup>, Valentina Gallo<sup>2</sup>, Matteo Gionfriddo<sup>3</sup>,  
Beatrice Nicolosi<sup>3</sup>, Laura De Gara<sup>3</sup>, Daniela Somma<sup>1</sup>, Paolo  
Zuppi<sup>3</sup>, Elisabetta Rossi<sup>4</sup>, Martin Sanou Sobze<sup>5</sup>, Raoul Guetiya  
Wadoum<sup>6,7</sup>, Vittorio Colizzi<sup>7</sup>, Lorenzo Traversetti<sup>1</sup>,  
Massimiliano Scalici<sup>1</sup>, Giovanni Antonini<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup>Science Department, Roma Tre University, Rome, Italy

<sup>2</sup>INBB Interuniversity Consortium of Structural and Systems Biology, Rome

<sup>3</sup>Food Science and Nutrition Unit, Campus Bio-Medico University, Rome

<sup>3</sup>Department of Endocrinology, San Camillo-Forlanini Hospital, Rome;

<sup>4</sup>Policlinico Agostino Gemelli, Sacro Cuore Catholic University, Rome, Italy

<sup>5</sup>Department of Biomedical sciences, University of Dschang, Cameroon

<sup>6</sup>Department of Biochemistry, University of Dschang, Cameroon

<sup>7</sup>Department of Biology, University of Rome "Tor Vergata", Rome, Italy

La minaccia alla salute pubblica causata dalla contaminazione delle reti idriche riveste un'importanza critica a livello internazionale. L'acqua rappresenta un elemento vitale per la sopravvivenza dell'uomo, e l'accesso a fonti idriche sicure da un punto di vista microbiologico è definito come un diritto umano essenziale; nonostante ciò, la disponibilità di acqua potabile in paesi in via di sviluppo (PVS) è spesso drasticamente compromessa, a causa di condizioni climatiche e socioeconomiche. Le popolazioni PVS sono frequentemente esposte a patologie infettive correlate al consumo di acqua microbiologicamente non sicura, principalmente causate da elementi oro-fecali appartenenti alla famiglia delle Enterobacteriaceae, che causano alterazioni dell'equilibrio

fisiologico intestinale con sintomi anche a livello sistemico. Tali patologie sono responsabili secondo la *WHO* del 20% della mortalità infantile a livello mondiale. La verifica e il monitoraggio della qualità microbiologica delle acque richiedono strutture e strumentazione dedicate, insieme a personale specializzato; tali condizioni sono spesso irrealizzabili in contesti che dispongono di risorse minime, come spesso nei PVS. Considerando tale contesto, il metodo Micro Biological Survey (MBS) si propone come un valido strumento che possa supportare l'implementazione di reti di monitoraggio idrico anche in condizioni di risorse limitate. Tale metodo propone un protocollo semplificato accessibile anche a personale non specializzato, promuovendo l'applicazione anche nei contesti più rurali e non richiede strumentazione aggiuntiva a quella fornita nel kit analitico, permettendo quindi semplici analisi *in situ*. Il metodo MBS è stato applicato con successo al monitoraggio microbiologico di varie sorgenti idriche in Cameroon, Eritrea e Tanzania. Esso si è mostrato in grado di evidenziare una contaminazione microbiologica significativa all'interno delle fonti idriche in esame, fornendo dunque informazioni essenziali per la definizione di azioni correttive come l'adozione di metodiche di disinfezione delle acque, l'ammodernamento della rete idrica o l'esclusione dell'accesso alla fonte in esame. Tale metodo è stato inoltre impiegato nella valutazione della flora microbica all'interno di corsi d'acqua nel Lazio, e la sua applicazione routinaria all'analisi delle acque interne potrebbe fornire informazioni preziose per una più completa comprensione e una ottimizzata gestione dello specifico ecosistema.

*Finanziato parzialmente da: MIUR Dipartimenti di Eccellenza (Science Department, Roma Tre University-Articolo 1, Commi 314–337 Legge 232/2016).*

# ISOTHERMAL AMPLIFICATION FOR MICRORNA DETECTION IN DIGITAL MICROFLUIDIC DEVICES

**N. Bellassai<sup>1</sup>, M. Selvaraj<sup>1,2</sup>, P. Greco<sup>2</sup>, G. Spoto<sup>1,3</sup>**

*1Dipartimento di Scienze Chimiche, Università degli Studi di Catania, Catania, Italy*

*2Scriba Nanotecnologie s.r.l., Bologna, Italy*

*3Istituto Nazionale di Biostrutture e Biosistemi, Università degli Studi di Catania, Catania, Italy*

*email: noemi.bellassai@unict.it*

The development of novel technologies for effective microRNA (miRNA) detection is strictly required in clinical diagnosis since they have recently been identified in peripheral blood as significant and predictive biomarkers for liquid biopsy.<sup>1</sup> MicroRNAs are short, single-stranded, non-coding RNA molecules involved in crucial post-transcriptional regulation of gene expression and in many fundamental cellular processes.<sup>2</sup> The detection of miRNA molecules is a great challenge due to their extremely short length (~22 nucleotides), very low concentration in biological fluids, and sequence homology.<sup>3</sup> The conventional approaches for nucleic acid detection, based on Polymerase Chain reaction (PCR) technique, suffer from low detection sensitivity and hardly allows discrimination between miRNA family members with very similar sequences. Recently, isothermal circular strand displacement polymerization (ICSDP) has emerged as an effective method for the quantification of nucleic acids and, especially, of miRNA target with highly sensitive and specific detection. Compared to the standard protocols, isothermal amplification can be performed at a constant temperature cycling by exploiting a molecular beacon (MB) fluorescent probe with a stem-loop structure complementary to the target

sequence.<sup>4</sup> A great breakthrough for the effective detection of miRNAs has been the integration of nucleic acid detection assays in microfluidic devices. In contrast to conventional bioassays, new digital bioassays represent an innovation in high throughput analysis since the target is partitioned into separate microreactors able to give ON/OFF signals. Droplet-based microfluidics offers many important advantages in biomolecular detection compared to continuous microfluidics, including reduced analysis time and sample volume, simplified automation of analytical procedures and integration of different functions in a single device. In a digital approach, the estimation of nucleic acids is performed without calibration standard curves or endogenous controls, and it enables the successful detection of analytes at low concentration.<sup>5</sup>

The research work describes the development of a new method of microRNA detection based on the combination of MB fluorescent probe with ICSDP amplification in a droplet microfluidic device. Specifically, a configuration of the droplet microfluidic system compatible with a digital detection approach has been designed. The microfluidic device generated spherical droplets with a nanoliter volume in a water/oil dispersion. These nanodroplets have been considered as a single chemical reactor individually analyzed. The bioassay allowed discriminating the fluorescence intensity of droplets with target sequences (miR-127-5p), involved in osteoarthritis (OA) disease, from blank signal of ICSDP solution, which includes all of the reagents except miRNA sequences, after 0 minutes and 30 minutes of the reaction. An increase of fluorescence signal has been observed after 30 min of the ICSDP amplification, by highlighting that the reaction took place inside the droplets. Also, the discrimination of target miRNA sequence with a control unrelated sequence, operating at the nanomolar concentration, has been revealed after 30 min.

The experiments allowed to demonstrate that designed MB can selectively recognize the target sequence which is amplified and detected. These preliminary data provide promising perspectives for the picomolar or even femtomolar detection of microRNA under an experimental configuration compatible with the implementation of a microfluidic-based digital detection assay through MB-based ICSDP amplification.

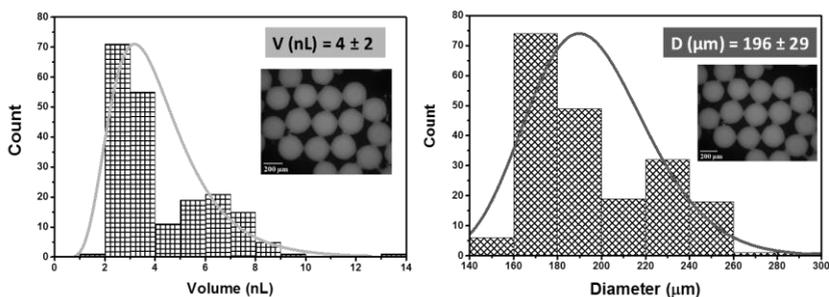


Figure 1. Size and volume characterization of single spherical droplets in the microfluidic device for the miRNA detection.

### References

1. Deng R., Zhang K., and Li J., *Acc. Chem. Res.*, 2017, 50, 1059–1068.
2. Kappel A., and Keller A., *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2017, 55, 636–647.
3. D'Agata R., and Spoto G., *Anal. Bioanal. Chem.*, 2019, doi: 10.1007/s00216-019-01621-8.
4. Giuffrida M. C., and Spoto G., *Biosens. Bioelectron.*, 2017, 90, 174-186.
5. Zhang Y., and Noji H., *Anal. Chem.*, 2017, 89, 92–101.

# GLI EFFETTI DEGLI AGONISTI DEL GLP-1R SUL TESSUTO ADIPOSO

***Giulia Cantini, PhD***

*Università degli Studi di Firenze, Dipartimento di Scienze Biomediche, Sperimentali e Cliniche "Mario Serio", Viale Pieraccini,6- 50139 Firenze*

Il tessuto adiposo bianco costituisce il principale deposito di grasso nell'uomo adulto e svolge un ruolo chiave nel bilancio energetico dell'organismo. Come riportato in numerosi studi epidemiologici e fisiopatologici, la diversa risposta fisiologica del tessuto adiposo e la disregolazione della funzione adipocitaria contribuiscono allo sviluppo dell'obesità e altri disordini metabolici associati. Gli agonisti del GLP-1R (GLP-1RA) ampiamente utilizzati nel trattamento del diabete di tipo 2, hanno suscitato notevole interesse anche come potenziale terapia anti-obesità. Dal momento che il trattamento con liraglutide, uno fra questi, si è rivelato estremamente efficace sulla riduzione del peso corporeo, è stato introdotto come farmaco con indicazione per l'obesità.

Nel nostro laboratorio sono state isolate e caratterizzate delle popolazioni di cellule staminali adulte derivate da tessuto adiposo bianco addominale (ASC), consentendo lo sviluppo di un modello cellulare valido per lo studio *in vitro* dei meccanismi fisiopatologici del tessuto adiposo (*Baglioni et al, Faseb J 2009; Baglioni, Cantini et al, PLOS One 2012*).

Questo modello è stato utilizzato per testare l'azione di dosi crescenti dei diversi agonisti del GLP-1R sui precursori adipocitari, confrontando gli effetti fra le varie molecole.

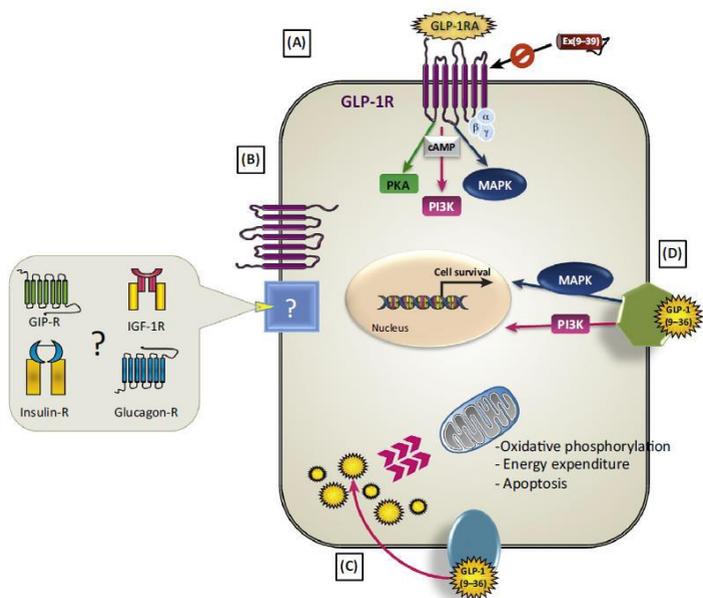
Il trattamento dei precursori adiposi con analoghi del GLP-1 sembra interferire con la proliferazione cellulare e con la capacità differenziativa di questi modelli *in vitro* (*Cantini et al, MCE 2015; Cantini et al, MCE 2017*). Parallelamente, sono

stati valutati gli effetti di dosi crescenti di glucagone sulla capacità proliferativa delle ASC. A differenza di quanto atteso sulla base dell'effetto opposto degli GLP-1RA e del glucagone sul controllo glicemico, i due tipi di molecole presentano effetti simili sulle ASC.

I meccanismi molecolari alla base degli effetti degli agonisti del GLP-1R non sono ancora chiari. In questo studio viene dimostrata l'espressione sia del recettore classico del GLP-1 che del recettore del glucagone nelle ASC, confermando gli effetti diretti degli agonisti del GLP-1R e del glucagone sul comparto staminale del tessuto adiposo (*Cantini et al J Mol Endocrinol 2019, second revision*).

In conclusione per la prima volta viene dimostrato che il modello cellulare di precursori adiposi umani esprime i recettori classici per GLP-1 e glucagone e che queste molecole inaspettatamente esercitano effetti inibitori simili sulla proliferazione e sul differenziamento in senso adipocitario. Questi dati suggeriscono che analoghi del GLP-1 o molecole strutturalmente simili hanno un effetto diretto sulla cellula adiposa.

Tuttavia la comprensione dei meccanismi molecolari che stanno alla base degli effetti fisiologici dei GLP-1RA risulta ancora da chiarire, suggerendo il coinvolgimento di meccanismi alternativi ai recettori classici (*Cantini et al, TEM 2016*), ipotizzabile dai nostri risultati.



*Le vie classiche e alternative del recettore del GLP-1 nel tessuto adiposo*

# ITSONEDB: A RELIABLE RESOURCE FOR THE INVESTIGATION OF THE HUMAN MYCOBIOME

**Giuseppe Defazio** (1), **Bruno Fosso** (2), **Monica Santamaria** (2) and **Graziano Pesole** (1,2).

1 Department of Biosciences, Biotechnology and Biopharmaceutics, University of Bari "A. Moro", via E. Orabona 4, Bari 70125, Italy

2 Institute of Biomembranes, Bioenergetics and Molecular Biotechnologies, Consiglio Nazionale delle Ricerche, via Amendola 122/O, Bari 70126, Italy

**Aim:** In the last ten years the human microbiome investigation has raised a constantly increasing interest both in the scientific community and in public opinion. The gained evidences have clearly defined how it deeply influences both the physiological and pathological processes. Even if most of the attention was focused on prokaryotes, more recently the survey of fungal communities, the so called mycobiome [1], gained momentum. In this framework, the advent of Next Generation Sequencing (NGS) technologies and the DNA metabarcoding (exploits marker genes to taxonomically classify species) has allowed to rapidly and accurately investigate complex microbiomes. Regarding the mycobiome, the ITS1 (Internal Transcribed Spacer 1) of the eukaryotic ribosomal gene cluster is the most promising marker. The taxonomic annotation of microbial species relies on well-curated databases. In this respect we carried out a benchmark assessment of ITSoneDB [2] and UNITE [3] as reference databases for the investigation of fungal communities.

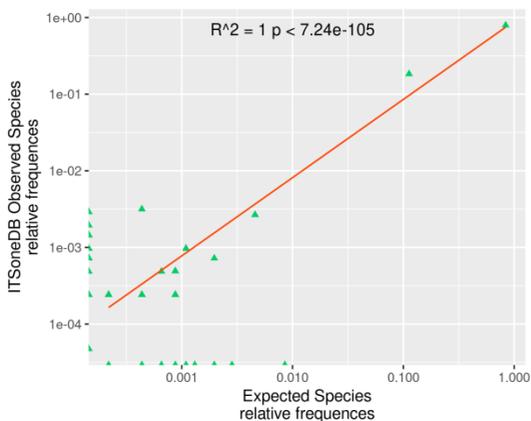
**Method:** In order to obtain an in-silico fungal mock community we have randomly drawn 1,000 fungal genomes from the Genome NCBI database. The ITS1 regions were in-silico amplified by using *primersearch* and an *in-house*

developed Python script. Then, Illumina 2x250 paired end ITS1 sequence amplicons have been generated in silico by using the Art-Illumina software. The obtained mock community includes 109 Families, 163 Genera and 73 Species. The sequences have been analysed by using QIIME2 by using both ITSoneDB and UNITE as reference databases.

**Results:** The databases performances in correctly profiling the mycobiome relative abundances have been assessed at Family, Genus and Species ranks by using the Pearson correlation ( $R^2$ ). Both ITSoneDB and UNITE have shown a  $R^2 = 1$  at Family and Genera level. At the Species level ITSoneDB outperformed UNITE by obtaining more accurate results both in terms of classified sequences (Table 1) and relative abundance correlation (Figure 1).

**Table 1:** Percentage of assigned reads at each taxonomic level and relative abundance correlation ( $R^2$ ).

		Family	Genus	Species
<b>ITSoneDB</b>	<b>Assigned</b>	98.9%	98.8%	81.7%
	<b><math>R^2</math></b>	1.00	1.00	1.00
<b>UNITE</b>	<b>Assigned</b>	98.6%	96.9%	1.9%
	<b><math>R^2</math></b>	1.00	1.00	0.01



**Figure1.** Scatter-plot representing the relationship between the observed and expected species relative abundances.

**Conclusion:** UNITE taxonomic assignments were very consistent at Family and Genus levels but not at species rank. Remarkably, as ITSoneDB results are consistent at every taxonomic level it represents a state of the art resource for the metabarcoding-based investigation of fungal microbial communities.

[1] S. Raimondi et al. , «Longitudinal Survey of Fungi in the Human Gut: ITS Profiling, Phenotyping, and Colonization», *Front. Microbiol.* , vol. 10, lug. 2019.

[2] M. Santamaria et al. , «ITSoneDB: a comprehensive collection of eukaryotic ribosomal RNA Internal Transcribed Spacer 1 (ITS1) sequences», *Nucleic Acids Res.* , vol. 46, n. D1, pagg. D127–D132, gen. 2018.

[3] U. Kõljalg et al. , «UNITE: a database providing web-based methods for the molecular identification of ectomycorrhizal fungi: Methods», *New Phytol.* , vol. 166, n. 3, pagg. 1063–1068, mar. 2005.

# DANDELION ROOT EXTRACT REDUCES THE ACTIVITY OF THE RENAL CLC-KA CHLORIDE CHANNEL THROUGH A $Ca^{2+}$ /PKC-MEDIATED MECHANISM

*Roberta De Zio*<sup>1</sup>, *Andrea Gerbino*<sup>1</sup>, *Serena Milano*<sup>1</sup>, *Daniela Russo*<sup>2</sup>, *Luigi Milella*<sup>2</sup>, *Giuseppe Procino*<sup>1</sup> and *Monica Carmosino*<sup>2</sup>

*<sup>1</sup>Department of Biosciences, Biotechnologies and Biopharmaceutics, University of Bari "Aldo Moro", 70126, Bari, Italy;*

*<sup>2</sup>Department of Sciences, University of Basilicata, Viale dell' Ateneo Lucano 10, 85100, Potenza, Italy.*

Dandelion (*Taraxacum officinale*) has been used for centuries as an ethnomedical diuretic, although to date few scientific data empirically support this effect. We have recently shown that an ethanolic dandelion root extract (DRE) mobilized intracellular  $Ca^{2+}$  in renal cells and this, in turn, could potentially activate several downstream effectors. In this study, we evaluated at cellular level the effect induced by DRE on three transport mechanisms involved in urine concentration: Na-K-2Cl symporter (NKCC2) in the thick ascending limb; water channel aquaporin 2 (AQP2) of collecting duct cells, ClC-Ka chloride channel in the thin ascending limb. Here, NKCC2 phosphorylation was evaluated as index of its activation by Western blotting. The rate of AQP2 accumulation at the apical plasma membrane was analysed by confocal laser microscopy in MCD4 cells. Chloride flux through ClC-Ka was measured by patch clamp experiments in HEK293 cells expressing ClC-Ka and the accessory protein Barttin. We found that exposure to DRE 400 $\mu$ g/mL did not affect neither NKCC2 activity nor AQP2 trafficking. On the other hand, 20 min. pre-treatment with DRE time-dependently reduced the Cl<sup>-</sup> currents through

ClC-Ka in HEK293 cells. Interestingly, this effect was: (i) prevented by intracellular Ca<sup>2+</sup> chelation induced by BAPTA-AM pre-treatment, (ii) blocked by calphostin C (a wide spectrum PKC antagonist) and (iii) mimicked by PMA (a PKC activator). In conclusion, we showed for the first time that DRE can inhibit the activity of ClC-Ka with a mechanism dependent by Ca<sup>2+</sup> increases and PKC activation. In a physiological context, the reduced activity of ClC-Ka in the presence of DRE could reduce net salts and water reabsorption without affecting other mechanisms currently targeted by other diuretics.

# EFFETTI DEL DEHP SUL TESTICOLO DI RATTO DOPO ESPOSIZIONE DURANTE LA VITA INTRAUTERINA

*Mariana Di Lorenzo*<sup>1</sup>, *Terje Svingen*<sup>2</sup>, *Julie Boberg*<sup>2</sup>, *Maria De Falco*<sup>1,3</sup>

*1 Department of Biology, University Federico II of Naples, Naples, Italy; 2 National Food Institute, Technical University of Denmark, Kgs. Lyngby, Denmark; 3 National Institute of Biostructures and Biosystems (INBB), INBB, Rome, Italy. E-mail: mariana.dilorenzo@unina.it*

Negli ultimi anni, l'aumento di incidenza dell'infertilità maschile è stato associato all'esposizione ai distruttori endocrini (EDCs) durante le cosiddette "finestre di suscettibilità" dello sviluppo come la vita fetale e neonatale.

Tra gli EDCs, gli ftalati sono ampiamente utilizzati nella produzione delle plastiche per aumentarne la flessibilità e la resilienza e sono ora considerati ubiquitari nell'ambiente. Il di-2-etilexilftalato (DEHP) è tra gli ftalati più commercialmente utilizzati ed è anche noto per indurre diversi effetti tossici a carico del testicolo, nonché disturbi dell'apparato riproduttivo maschile come criptorchidismo, ipospadia, alterazione della spermatogenesi e riduzione della fertilità.

Nel presente lavoro, mediante studi *in vivo*, sono stati studiati gli effetti di differenti dosi di DEHP (0, 30, 300 e 900 mg/kg bw/day) sull'istopatologia del testicolo di ratto durante il periodo neonatale (PND 6), dopo esposizione *in utero* e durante la lattazione (GD 7- PND 6).

Mediante colorazione emallume-eosina è stata effettuata una prima valutazione morfologica del testicolo, evidenziando la presenza di gonociti grandi e multinucleati dopo trattamento con alte dosi di DEHP; al contrario, il trattamento a nessuna delle dosi considerate ha determinato alterazioni a livello delle

cellule neonatali del Sertoli. Utilizzando marker specifici per i diversi tipi di cellule del testicolo, è stato possibile notare che le cellule del Leydig in seguito al trattamento tendono ad aggregarsi in clusters già dopo esposizione a basse dosi di DEHP e, all'aumentare delle dosi, si può evidenziare la presenza di cellule del Leydig all'interno di tubuli malformati. Si è inoltre osservata una riduzione del diametro dei tubuli dopo esposizione a tutte le dosi considerate di DEHP (**Tab. 1**). È stato inoltre valutato se il DEHP fosse in grado di indurre un'alterazione nell'espressione delle gap junction (GJ) come la connessina 43 (Cx43) che svolge un ruolo chiave nella spermatogenesi ed è fondamentale per favorire un corretto assemblaggio della barriera emato-testicolare ed il trattamento è responsabile di una severa riduzione di espressione della Cx43 principalmente a carico delle cellule del Leydig.

I risultati ottenuti hanno dimostrato che dopo esposizione *in utero*, durante il periodo neonatale il DEHP esplica effetti negativi principalmente a carico delle cellule del Leydig e ciò pertanto potrebbe influenzare la funzione delle cellule di Leydig nelle fasi successive dello sviluppo ed essere associato alla sindrome da disgenesi testicolare (TDS).

	CTRL	DEHP 30 mg/kg	DEHP 300 mg/kg	DEHP 900 mg/kg
Gonociti multinucleati	25% (3/12)	83,3% (5/6)	75% (3/4)	100% (4/4)
Piccoli clusters di cellule del Leydig	25% (3/12)	83,3% (5/6)	25% (1/4)	25% (1/4)
Grandi clusters di cellule del Leydig	0% (0/12)	16,6% (1/6)	75% (3/4)	75% (3/4)
Tubuli malformati	0% (0/12)	0% (0/6)	0% (0/4)	50% (2/4)
Diametro tubuli	161 ± 4	151 ± 4	149 ± 6	152 ± 6

**Tabella 1**

# **CORD BLOOD SERUM (CBS) BASED EYE DROPS MITIGATE LIGHT-INDUCED RETINAL NEURODEGENERATION**

*S. Di Marco<sup>1,2</sup>, S. Riccitelli<sup>1</sup>, M. Di Paolo<sup>1</sup>, M. Buzzi<sup>3</sup>, C. Ciavarella<sup>4</sup>, P. Versura<sup>4</sup>, E. Campos<sup>4</sup>, S. Bisti<sup>1,2</sup>*

*<sup>1</sup> Department of Applied Clinical Science and Biotechnology, University of L'Aquila, Via Vetoio, Coppito II, 67100 L'Aquila, Italy; <sup>2</sup> Istituto Nazionale di Biostrutture e Biosistemi (INBB), Via Medaglie d'Oro 305, 00136 Roma, Italy; <sup>3</sup> Emilia-Romagna Cord Blood Bank-Transfusion Service, S. Orsola-Malpighi Teaching Hospital, Bologna, Italy; <sup>4</sup> Ophthalmology Unit, University of Bologna and S. Orsola Teaching Hospital, Bologna, Italy*

Age-related macular degeneration (AMD), is a multifactorial disease leading to blindness condition. Degeneration is centered in the fovea, the central part of the retina and has two forms “dry” and “wet”. A consolidated model to mimic this pathology in rats is the light-damage model (LD), obtained by exposing albino rats, raised at 5 lux, for 24 hours to 1000 lux. In this model degeneration starts from an area in the dorsal side of the retina, called “hot-spot”, which expands over time. Cord blood serum (CBS) is an extract full of chemokine and trophic factors and is potentially a good candidate as neuroprotectant. It is already in use in clinical practice for corneal pathologies, we propose its use for photoreceptor’s degenerations also on the basis of case reports in glaucoma patients. Animals were treated four times/per day starting 7 days before LD and were additionally treated for 7 days after LD. Electroretinographic recordings (f-ERG) were performed at the end of this period and subsequently animals were sacrificed for histological evaluation and immunolabelling. CBS treatment mitigated the reduction in f-ERG response after LD and reduced the extension of the "hot spot". In addition, the morphology of outer nuclear layer was maintained together with a reduction in

microglia migration and activation. Interestingly, the treatment did not modulate reactive gliosis and activation of self-protective mechanism (FGF2). In Conclusion, our results show that CBS-based eye drops might be successfully used to mitigate retinal neurodegenerative processes. Moreover, compared to previous studies, where only single trophic factor has been used, the effective dose used in this work, is at least one order of magnitude smaller for each of the dosed neurotrophin.

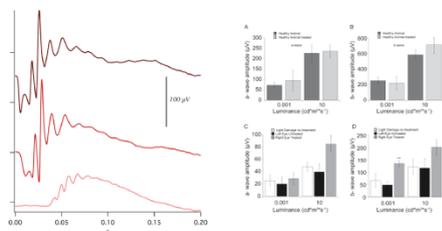


Figure 1: *In agreement with previous results, the amplitude of both a- and b-waves is strongly reduced after light damage. Eye drops preserve retinal function in the treated eye compared to the contralateral fellow eye and LD control.*

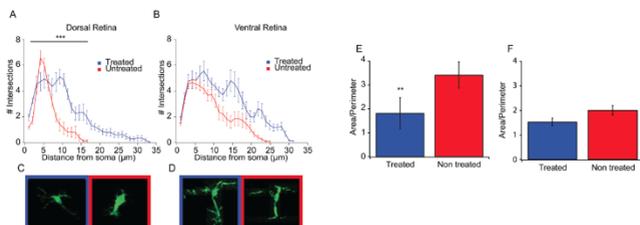


Figure 2: *In treated retinas, migration and activation of microglia appear reduced. Sholl analysis provides quantitative evidence of the activation of microglia from an inactivated to an activated form (more rounded).*

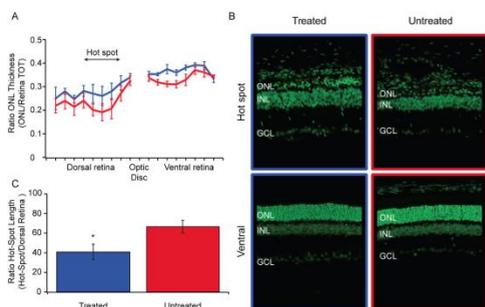


Figure 3: *In treated eyes, the ONL (A) is more preserved with respect to the fellow eye in the dorsal retina, while the ventral retina appears similar in the two groups.*

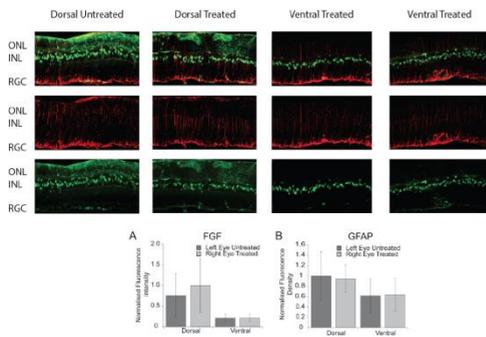


Figure 4: *No major differences can be detected in GFAP and FGF2 images between treated and untreated retiniae.*

## **PROGETTO ADVISER (AUTOMATIC DEVICE FOR SMART DETECTION OF TUMOURS)**

*Gallo V<sup>1</sup>, Lai A<sup>3</sup>, Pasquo A<sup>3</sup>, Almaviva S<sup>3</sup>, Iacobelli S<sup>4</sup>, Salomè A<sup>5</sup>, Stellato G<sup>5</sup>, Lezzerini L<sup>6</sup>, Martinelli E<sup>7</sup>, Catini A<sup>7</sup>, Aragno C<sup>8</sup>, Biscotti F<sup>8</sup>, Antonini G<sup>1,2</sup>.*

1. *Istituto Nazionale Biostrutture e Biosistemi, Roma.*
2. *Università degli Studi Roma Tre, Roma.*
3. *ENEA, Frascati.*
4. *Università degli Studi G. d'Annunzio Chieti e Pescara.*
5. *Consorzio ARES, 00133 Lezzerini s.r.l., Roma.*
6. *Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Roma.*
7. *Kell s.r.l., Roma.*

La ricerca e l'identificazione di marcatori tumorali nei fluidi biologici è attualmente uno dei principali strumenti di supporto alla diagnosi, alla prognosi e al monitoraggio della risposta terapeutica in ambito oncologico. L'identificazione di marcatori tumorali in pazienti ancora asintomatici è da considerarsi inoltre di grande interesse nella diagnosi precoce, tuttavia la sua applicazione in questo contesto è ancora limitata dalla sensibilità dei metodi di rilevazione attualmente in uso (es. ELISA, spettrometria di massa) che non consentono di rilevare la presenza di marcatori tumorali se presenti in quantità troppo piccole. La presente ricerca si propone superare le criticità imposte dagli strumenti attualmente usati in diagnostica oncologica sviluppando un innovativo dispositivo medico integrato, che consenta la diagnosi precoce e ultrasensibile di tumori attraverso la rilevazione rapida di marcatori tumorali con il più elevato potere predittivo, se comparato alle altre tecniche applicate alla diagnostica dei tumori (PET). A tale scopo, è stato messo a punto un sistema di rilevazione basato sull'uso della spettroscopia Raman (SERS)

in combinazione con lo sviluppo di Biochip nanostrutturati d'oro funzionalizzati. Per la funzionalizzazione dei Biochip sono stati sviluppati protocolli per l'immobilizzazione covalente di anticorpi monoclonali diretti contro i marcatori tumorali di interesse, inclusa la proteina LGAL3BP (90k). La funzionalizzazione dei Biochip con anticorpi è stata confermata sia spettralmente, tramite spettroscopia Raman, che mediante analisi di microscopia a forza atomica. A seguito della funzionalizzazione, il legame anticorpo-antigene è stato valutato mediante spettroscopia SERS per la valutazione del limite di rivelabilità (LOD), dapprima mediante l'analisi di soluzioni standard di antigene ricombinante, comparando i risultati ottenuti alla LOD di saggi immunoenzimatici (ELISA). I dati ottenuti dagli spettri Raman sono stati elaborati mediante analisi delle componenti principali (PCA). A seguito dell'identificazione delle condizioni di misura ottimali, è attualmente in corso l'analisi di campioni biologici (sieri di pazienti oncologici e di donatori sani provenienti da biobanche) per la validazione del metodo. In parallelo alla validazione del dispositivo di rilevazione e all'ottenimento di un numero statisticamente significativo di correlazioni cliniche per applicazioni bioinformatiche, il gruppo di progetto sta finalizzando la messa a punto di un sistema integrato di sottosistemi elettromeccanici, micro-fluidici ed elettrici opportunamente collegati e sincronizzati in un sistema Raman, che si interfaccia con un "sistema esperto multi-agent"(MAS), per lo sviluppo di un "sistema intelligente" capace di un'interpretazione automatizzata dei dati biologici e di elevato potere predittivo.

*Finanziato parzialmente da Regione Lazio: Avviso Pubblico "Kets- tecnologie abilitanti" di cui alla Det. n. G13675 del 21/11/2016- POR FESR LAZIO 2014-2020 - Progetti Integrati) e MIUR: Dipartimenti di Eccellenza (Science Department, Roma Tre University -, Articolo 1, Commi 314-337 Legge 232/2016).*

# **PROFILO METABOLICO E CONTENUTO IN CANNABINOIDI DI INFIORESCENZE DI CANNABIS SATIVA L.: INFLUENZA DI DIFFERENTI PRATICHE AGRONOMICHE**

**F. Ghirga<sup>1</sup>, D. Quaglio<sup>2</sup>, A.P. Sobolev<sup>3</sup>, C. Ingallina<sup>2</sup>**

*1Center For Life Nano Science@Sapienza, Istituto Italiano di Tecnologia (IIT), Viale Regina Elena 291, 00161 Roma, Italia.*

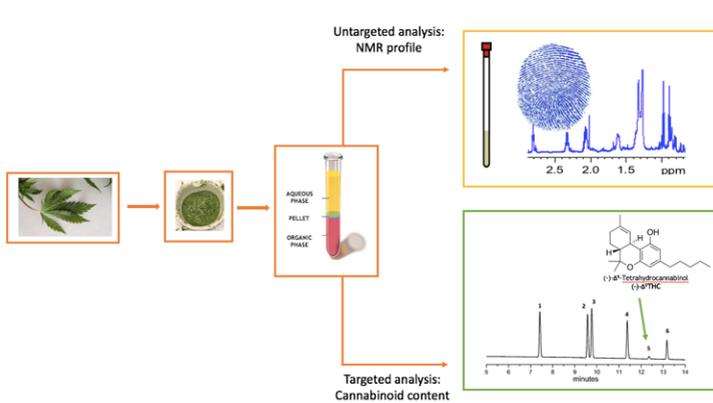
*2Dipartimento di Chimica e Tecnologie del Farmaco, Sapienza Università di Roma, Piazzale Aldo Moro 5, I-00185 Roma, Italia.*

*3Istituto per i Sistemi Biologici, Laboratorio di Risonanza Magnetica "Annalaura Segre", Consiglio Nazionale delle Ricerche, Via Salaria Km 29.300, 00015 Monterotondo (Roma), Italia.*

*email: francesca.ghirga@iit.it*

La crescente richiesta di prodotti agroalimentari ottenuti dai semi della canapa industriale (*Cannabis sativa* L.), come olio e farine ad elevato valore nutrizionale [1], ha stimolato la reintroduzione della coltivazione della canapa nel nostro Paese. Alcuni aspetti della tecnica colturale riguardo l'utilizzazione di varietà monoiche, adatte alla produzione di seme, rimangono comunque poco conosciuti soprattutto in ambiente Mediterraneo. L'obiettivo del progetto regionale LaCanapa, presentato da un Gruppo di Ricerca Misto e coordinato dalla Prof.ssa Luisa Mannina, è l'allestimento di una filiera agroalimentare riguardante la canapa industriale. Oltre alla selezione delle varietà da coltivare e alla messa a punto delle tecniche di coltivazione, è studiato il profilo chimico-nutrizionale delle varie tipologie di produzione (infiorescenze, semi) e dei relativi prodotti derivati (birra, farina e derivati, miele, oli). La scelta di una adeguata cultivar è di fondamentale importanza al fine di ottimizzare le produzioni di infiorescenze e di semi. Nell'ambito del progetto regionale sono state prese in considerazioni differenti varietà di *Cannabis sativa* L.

dioiche coltivate nell'alto Lazio nei territori di Allumiere e Tolfa. Le cultivar selezionate sono: Carmagnola (sei genotipi differenti) Eletta Campana (due genotipi) Kompolti, Antal, Tsiza, Fibranova e Tiborzallasi. Il profilo metabolico delle infiorescenze è stato monitorato durante il periodo massimo di fioritura, e ha previsto tre campionamenti. Gli estratti idroalcolici e organici di ciascun campione, ottenuti attraverso il protocollo Bligh-Dyer [2], sono stati sottoposti a diversi esperimenti di Risonanza Magnetica Nucleare: 1D ( $^1\text{H}$ ) and 2D ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  TOCSY,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC and  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC). L'analisi degli spettri ha consentito di delineare il profilo metabolico di ciascuna cultivar e di monitorare i diversi metaboliti primari e secondari durante il periodo selezionato. I dati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi statistica multivariata (PCA) che ha evidenziato, nel caso dei differenti genotipi della cultivar Carmagnola, come la variabilità è funzione del periodo di raccolta più che del genotipo. Parallelamente è stato studiato il profilo dei cannabinoidi in cultivar monoiche e dioiche, e come il contenuto di essi sia influenzato da fattori esterni quali diverse fasi di campionamento, differenti tipi di concimazione e la mancanza o meno di irrigazione. Le analisi sono state effettuate grazie all'impiego della cromatografia liquida ad alte prestazioni (HPLC), una tecnica analitica che consente di ottenere risultati in tempi relativamente veloci [3].



- [1] G. Crescente, S. Piccolella, A. Esposito, M. Scognamiglio, A. Fiorentino, e S. Pacifico *Phyt. Rev.* **17** (4), 733-749 (2018)
- [2] E.G. Bligh, e W. J. Dyer *Can. J. Biochem. Physiol.* **37**, 911-917 (1959)
- [3] “Protocollo tecnico per la determinazione quantitativa del contenuto di thc delle varietà di canapa”, GU n.132 del 16-6-201

# **UN NUOVO METODO PER LA DIAGNOSI DELLE INFEZIONI DELLE VIE URINARIE: RISULTATI DELLA SPERIMENTAZIONE CLINICA**

*Lorenza Murgia<sup>1</sup>, Alyexandra Arienzo<sup>1</sup>, Valentina Cellitti<sup>2</sup>,  
Valeria Ferrante<sup>2</sup>, Francesca Losito<sup>2</sup>, Ottavia Stalio<sup>1</sup>, Lorena  
Silvestri<sup>3</sup>, Rossella Marino<sup>4</sup>, Paolo Visca<sup>1</sup>, Salvatore Di  
Somma<sup>4</sup>, Giovanni Antonini<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup>*Science Department, Università degli Studi Roma Tre, Rome, Italy*

<sup>2</sup>*Interuniversity Consortium "Istituto Nazionale Biostrutture e Biosistemi"  
(INBB), Rome, Italy*

<sup>3</sup>*Istituto Dermopatico dell'Immacolata, Rome, Italy*

<sup>4</sup>*Emergency Medicine, Department of Medical-Surgery Sciences and  
Translational Medicine, Università La Sapienza of Rome, Rome, Italy*

Le infezioni delle vie urinarie (*urinary tract infections*, UTI) costituiscono una delle più frequenti patologie di origine infettiva richiedendo un impegno ingente in termini di risorse economiche e logistiche. Le UTI sono causate dalla colonizzazione e moltiplicazione nel tratto urinario di microorganismi (batteri e miceti), con possibile diffusione sistemica attraverso il circolo ematico e risultando in quadri clinici anche gravi quali :Sepsi e shock settico,. Ad oggi, lo standard diagnostico prevede la conferma mediante esami di laboratorio (urinocoltura e antibiogramma) dell'esito dell'esame obiettivo; questo approccio richiede tempi considerevoli (fino a 3-5 giorni) e sottintende carichi di lavoro non trascurabili, considerando che le urine costituiscono la maggioranza dei campioni ospedalieri sottoposti ad analisi. A causa di tale dilatazione nei tempi necessari all'ottenimento dei risultati di laboratorio, il trattamento antibiotico viene iniziato generalmente su base empirica, e questo può comportare un

abuso nell'utilizzo di farmaci e in ultimo promuovere l'emergenza di resistenze. Le scelte terapeutiche potrebbero essere accelerate e quindi migliorate sensibilmente in seguito allo sviluppo di un test diagnostico rapido, accurato e dai costi contenuti, che possa essere effettuato al letto del paziente, ad esempio adottando un Point-of-Care Test (POCT) che consenta il rilevamento di una batteriuria clinicamente significativa (almeno  $10^5$  CFU/ml) e la valutazione della suscettibilità dei patogeni verso composti farmacologici di interesse. Questo consentirebbe di effettuare uno *screening* più razionale prima dell'inizio del trattamento, migliorare il *follow-up* dei pazienti grazie alla valutazione dell'efficacia della strategia terapeutica scelta e monitorare i profili di resistenza locali. I dispositivi MBS POCT e MBS AST POCT sono stati sviluppati sulla base del metodo Micro Biological Survey (MBS) al fine di fornire uno strumento diagnostico completo per il rilevamento e la gestione delle UTI al letto del paziente. La performance di tali dispositivi è stata verificata all'interno di due studi clinici prospettici, in collaborazione con il reparto di Medicina d'Urgenza dell'Azienda Ospedaliera Sant'Andrea (AOSA), Roma e l'ambulatorio dell'Istituto Dermatologico dell'Immacolata (IDI), Roma. Su un totale di 344 pazienti, il dispositivo MBS POCT è stato in grado di rilevare la presenza di una batteriuria significativa entro 5.24h (circa 50% entro 2h) con elevati parametri di accuratezza, NPV e PPV (rispettivamente 97%, 96% e 99%). Un'ulteriore stratificazione dei pazienti è stata possibile considerando, oltre alla soglia di positività (5.24h), una soglia di negatività (7h), individuando tre categorie di rischio decrescente (positivo-probabilmente positivo, da confermare con ulteriori esami-negativo). Anche il dispositivo MBS AST POCT ha restituito incoraggianti risultati: un'accuratezza pari al 100% è stata ottenuta per un pool preliminare (n=13) all'AOSA considerando

amoxicillina/acido clavulanico, trimethoprim/sulfametoxazolo e levofloxacin; valori di accuratezza comunque soddisfacenti sono stati ottenuti per i pazienti dell'IDI (93% per amoxicillina/acido clavulanico, n=57; 97% per trimethoprim/sulfametoxazolo, n=72; 100% per ciprofloxacina, n=80). I risultati ottenuti sono, pertanto, promettenti in quanto i dispositivi esaminati sembrano in grado di fornire al personale clinico informazioni rapide e specifiche per guidare la diagnosi di UTI e ottimizzare le susseguenti azioni terapeutiche.

*Finanziato parzialmente da: MIUR Dipartimenti di Eccellenza (Science Department, Roma Tre University -Articolo 1, Commi 314–337 Legge 232/2016).*

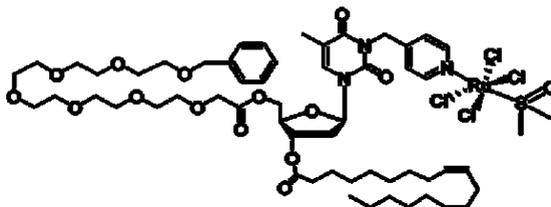
# **EXPLORING CELLULAR UPTAKE, ACCUMULATION AND MECHANISM OF ACTION OF AN ANTICANCER RU(III) COMPLEX LOADED INTO A NUCLEOLIPIDIC-BASED NANOSYSTEM IN PRECLINICAL MODELS OF HUMAN BREAST CANCER**

*M. PiccoloI, M.G. Ferraroi, C. Tammaroi, F. Raucchi, F. MaioneI,  
M. TrifuoggiI, D. MontesarchioII, R. SantamariaI, C. IraceI.  
I*Department of Pharmacy, School of Medicine, University of Naples  
"Federico II", Naples, Italy; *II*Department of Chemical Sciences,  
University of Naples "Federico II", Naples, Italy.

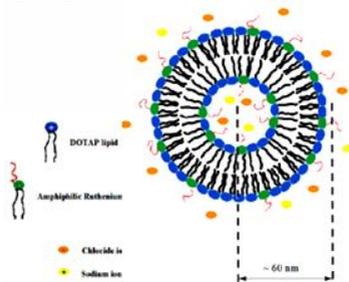
Breast cancer is the second most common cancer in the world after lung cancer, the fifth most common cause of death from cancer, and the leading cause of cancer death in women. According to the World Health Organization, its incidence is constantly increasing so that the development of new effective anticancer drugs with specific mechanisms of action is considered a priority by the scientific community to defeat specific types of cancer, to limit toxic side effects as well as chemoresistance development. The scientific literature shows important advances in the therapeutic field, but concurrently new challenges and debates, *i.e.* tumour heterogeneity and biomarkers validation for the choice of the best therapy. Moreover, in the specific case of breast cancer, another concrete obstacle to clinical success is often represented by the onset of resistance phenomena to chemotherapeutic agents. In recent years, in the field of metal-based anticancer drugs, numerous ruthenium complexes, both inorganic and organic, have been proposed and tested as alternative drugs to cisplatin and congeners, as they have a strong antiproliferative activity

in addition to a lower toxicity profile. Indeed, many ruthenium (III) complexes act as prodrugs, generating active cytotoxic species (Ru II) *in situ* within specific tumour microenvironment. In this context, our current studies have demonstrated the efficacy of a low molecular weight ruthenium (III) complex (AziRu) incorporated into a cationic nanosystem (named HoThyRu/DOTAP), proved to be hitherto one of the most effective within a suite of nucleolipidic formulations we have developed for the *in vivo* transport of anticancer ruthenium (III) based drugs<sup>1-2</sup>.

### HoThyRu



Preclinical studies *in vitro* for the evaluation of cellular response on a selected panel of human breast cancer cells (BCC) - including endocrine-reactive adenocarcinoma cells (ER, MCF-7 line) and triple negative breast adenocarcinoma cells (TNBC, line MDA-MB-231) - have shown that our nanosystems are able to significantly inhibit cell proliferation, through the activation of different cell death pathways, *i.e.* apoptosis and autophagy<sup>3</sup>.



Hence, based on very motivating results on BCC, in order to investigate animal biological responses to systemic administration of HoThyRu/DOTAP nanosystem, along with its effects on the progression of breast cancer *in vivo*, we have performed an antitumour study *in vivo* using athymic nude mice bearing human BCC xenograft. In depth analysis of tumour growth shows that HoThyRu/DOTAP significantly inhibits breast cancer cell proliferation in mice, without any sign of toxicity in treated animal group<sup>4</sup>. Molecular biology experiments have been also performed *ex vivo* to deepen cellular responses and/or resistance to treatments, as well as to support *in vivo* the activation of specific pathways of cell death. *Ad hoc* selected fluorescent molecular probes and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) analysis have allowed to study cellular "trafficking" as well as ruthenium tissue accumulation after nanosystem treatment *in vitro* and *in vivo*. Furthermore, the oncogenic and tumour suppressor role of regulatory proteins has been investigated by immunochemical techniques, proving apoptosis and autophagy involvement behind the antiproliferative action of the HoThyRu/DOTAP nanosystem. Potential agents able to trigger multiple biological responses are attracting more and more interest in the field of promising therapeutic strategies to address chemoresistance and tumour spread, especially if coupled to nanoparticles utilization as the means of targeted delivery while avoiding or reducing undesired side-effects. Following this line, our preclinical investigations suggest that an original strategy based on suitable formulations of novel multi-target Ru-based complexes could open new opportunities for breast cancer treatment, including the highly aggressive triple-negative subtype.

<sup>1</sup>Vitiello et al., J. Mater. Chem. B, 3: 3011-3023, 2015. <sup>2</sup>Riccardi et al., EurJOC. 7: 1099-1119, 2017. <sup>3</sup>Irace et al., SREP. 7:45236, 2017. <sup>4</sup>Piccolo et al., SREP. 9(1):7006, 2019.

# **miRNA 486-5P UN RUOLO NELLE CANCER STEM CELLS IMPLICATE NELLA METASTASI DEL CANCRO DEL COLON-RETTO**

*Andrea Pisano<sup>1,2</sup>, Cristiano Farace<sup>1,3</sup> and Roberto Madeddu<sup>1,3</sup>*

*1 Department of Biomedical Science, University of Sassari, Sassari, Italy*

*2 Biopathology and Regenerative Medicine Institute (IBIMER), Centre for Biomedical Research, (CIBM) University of Granada, Granada, Spain*

*3 National Institute of Biostructures and Biosystems, Rome, Italy*

Il cancro del colon-retto è la terza patologia tumorale per incidenza sia per uomini che per donne, con circa 1,1 milioni di nuovi casi e 0,5 milioni di morti al mondo nel 2018. Evidenze scientifiche suggeriscono una buona applicabilità della teoria delle Cancer Stem Cells (CSCs) a questo tumore, detta teoria propone che alla base della recidività, della resistenza ai trattamenti antitumorali e delle metastasi del cancro si trovino proprio queste cellule, che bene si inseriscono nel variegato quadro cellulare di questo tumore. Queste cellule sono molto resistenti, essendo capaci di entrare in uno stato di quiescenza che le permette di attraversare indisturbate il torrente sanguigno, di promuovere l'autorigenerazione e di proliferare ad alti ritmi, maggiori delle normali cellule tumorali. I microRNA (miRNA), piccole sequenze di acidi nucleici lunghe circa 22nt sono implicati nella regolazione postrascrizionale, regolando il ciclo e la biochimica della cellula. Alterazioni di queste molecole sono connesse con l'insorgenza di diverse patologie, tra le quali anche i tumori, potrebbero inoltre trovarsi alla base dei meccanismi che guidano le cellule staminali verso la conversione a CSCs; si pensa inoltre che i miRNA possano essere utilizzati da queste ultime come messaggeri, al fine di regolare le cellule circostanti e quelle locate in altri siti (nicchie) per sostenerle nel loro sviluppo e sopravvivenza. I miRNA potrebbero rappresentare quindi un

ottimo marker diagnostico e target terapeutico, essendo la loro espressione differente tra i diversi fenotipi, inoltre date le loro dimensioni risultano essere incredibilmente stabili a livello ematico, caratteristica che conferisce maggiore appetibilità per il suo utilizzo come marker diagnostico facilmente accessibile.

Alla luce di queste evidenze, l'intento del presente lavoro è stato quello di indagare se fossero presenti uno o più miRNA associabili alle CSCs e alla metastasi del cancro del colon-retto. Il soggetto di questo lavoro è il miRNA 486-5p (miR 486-5p), che è risultato essere meno espresso nei pazienti metastatici e nei modelli in vitro di CSCs quando comparati con i classici monolayer modello di adenocarcinoma del colon-retto. Questo miRNA è emerso dopo RNA sequencing del siero dei pazienti raccolti in pool in e classificati per gravità della patologia, dato confermato tramite qpcr sui 50 pazienti presi singolarmente. Per la validazione in vitro i livelli di questo miRNA sono stati quantificati su tre modelli cellulari di adenocarcinoma del colon-retto, coltivati nelle due condizioni monolayer e Colosphere (modello rappresentativo delle CSCs). Il miRNA in questione è risultato essere meno espresso nei pazienti metastatici e nelle CSCs. Dato che ha portato a supporre un ruolo nella staminalità di questo miRNA. Questo ruolo è stato confermato tramite studio funzionale, inducendo l'iper e l'ipoespressione dello stesso sulla linea cellulare HCT-116 nelle forme monolayer e arricchita in CSCs; su questi modelli è stato poi valutato tramite qpcr l'effetto su *sox2*, *nanog*, *oct4*, *klf4* e *c-myc*. I risultati hanno confermato il ruolo protettivo del miR 486-5p essendo la sua espressione inversamente proporzionale a quella dei geni di staminalità associati alle CSCs e alla metastasi. Sono attualmente in corso studi sull'espressione tramite microarray, tramite i quali si chiariranno quali sono i pathway nei quali si inserisce questo miRNA.

Questo lavoro oltre a offrire nuove conoscenze sui meccanismi biomolecolari di questo tumore e a rinforzare la teoria delle CSCs,

evidenza come i miRNA abbiano un eccellente potenziale diagnostico e prognostico in questa patologia, offrendo inoltre nuove vie di studio anche come target terapeutici. È infatti intenzione del nostro gruppo di ricerca continuare ad approfondire questo aspetto ampliando il pattern di miRNA e testando in sistemi più complessi il miRNA oggetto di questa dissertazione e quanti altri ne verranno individuati, al fine di definire nuovi potenti marker diagnostici e prognostici e nuovi eventuali target terapeutici, nella prospettiva di diagnosi precoci e accurate, accompagnate da terapie personalizzate.

# ANTIBODY-MEDIATED SMALL MOLECULE DETECTION USING PROGRAMMABLE DNA-SWITCHES

*Marianna Rossetti,<sup>1</sup> Rudy Ippodrino,<sup>2</sup> Bruna Marini,<sup>2</sup> Giuseppe Palleschi,<sup>1</sup> and Alessandro Porchetta<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Department of Chemical Sciences and Technologies, University of Rome Tor Vergata, Via della Ricerca Scientifica 1, 00133 Rome, Italy*

*<sup>2</sup>Ulisse BioMed S.r.l., Area Science Park, 34149 Trieste, Italy*

Nowadays the detection of small molecules still require the use of sophisticated instruments, qualified personnel and multi-step time-consuming procedures. The development of single-step, reliable, rapid, cost-effective and sensitive strategies for the detection of small molecules is crucial and remains challenging for many applications including environmental analysis and clinical diagnosis. To tackle this challenge, we propose here an innovative strategy that makes use of programmable DNA-switches and antibodies. In particular, the proposed strategy couples the advantages of programmable structure-switching DNA-based probes with those of proximity-based methods for the rapid, cost-effective, single-step fluorescence detection of small target analytes (Fig. 1).

The proposed strategy has been applied for detection of environmentally relevant small target analytes. Nevertheless, thanks to its modular and versatile nature, it can potentially be applied for the detection of any small target molecule that can be conjugated to a nucleic acid sequence. This approach might represent a crucial step towards point-of-care testing and on-site environmental monitoring.

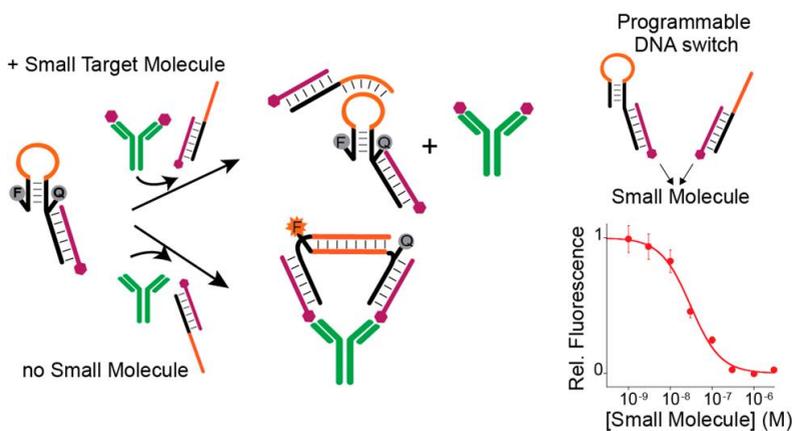


Fig. 1 Rational design of programmable DNA-switches for the single-step fluorescence detection of small molecules. (F=fluorophore, Q=quencher)

## Reference

Rossetti M, Ippodrino R, Marini B, Palleschi G, Porchetta A, *Anal. Chem.* 2018, 90, 8196-8201.

# **DETERMINAZIONE DI ALCUNI INTERFERENTI ENDOCRINI NELLE ACQUE E NEI SEDIMENTI DI UN ECOSISTEMA LAGUNARE MODELLO DELL'ITALIA MERIDIONALE**

*Giacomo Russo, Luciano Ferrara, Lucia Grumetto*

Per stabilire lo stato di salute di un lago, è stato sviluppato e validato *ad hoc* un metodo analitico che consente la determinazione simultanea di quattordici interferenti endocrini nelle acque superficiali e nei sedimenti mediante cromatografia liquida. L'ecosistema acquatico è il Lago Lucrino, situato nella regione Campania, nel sud dell'Italia, in comunicazione con il mare e con sorgenti termali e con un fondale marino soggetto a bradisismo e terremoti associati. BPA, BPAF e BADGE, gli interferenti endocrini rilevati con una frequenza del 100% sia nell'acqua che nei sedimenti. I risultati di questo studio hanno mostrato che: i) i valori di concentrazione più alta e più bassa nei sedimenti sono il bisfenolo AF mentre nell'acqua la concentrazione più elevata era quella del bisfenolo A diglicidil etere e la più bassa del bisfenolo AF; ii) le concentrazioni medie dei singoli interferenti endocrini sono piuttosto più elevate nei sedimenti che nelle acque; iii) le abbondanze relative di BPA, BPAF e BADGE sono diverse in acqua e sedimenti iii) la percentuale di composizione di BPA, BPAF e BADGE è diversa in acqua e sedimenti; iv) l'ecosistema al momento non sembra presentare alcun rischio apprezzabile per la conservazione della biodiversità delle specie animali che vi abitano.

# INNOVA4GAMMA: STRATEGIE INNOVATIVE PER IL MIGLIORAMENTO QUALITATIVO E LA PRODUZIONE DEI PRODOTTI DI IV GAMMA

*Ottavia Stalio<sup>1</sup>, Alyxandra Arienzo<sup>1</sup>, Lorenza Murgia<sup>1</sup>,  
Andrea Mozzetti<sup>1</sup>, Maria Novella Spalletta<sup>1</sup>, Valentina Gallo<sup>2</sup>,  
Cristiana Citton<sup>2</sup>, Riccardo Angelini<sup>1,2</sup>, Alessandra Cona<sup>1,2</sup>,  
Ilaria Fraudentali<sup>1</sup>, Paraskevi Tavladoraki<sup>1,2</sup>, Simone Grasso<sup>2,4</sup>,  
Laura De Gara<sup>3</sup>, Giorgio Pennazza<sup>3</sup>, Vittoria Locato<sup>3</sup>,  
Marco Santonico<sup>3</sup>, Giovanni Antonini<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup>Science Department, Roma Tre University, Rome, Italy

<sup>2</sup>INBB Interuniversity Consortium of Structural and Systems Biology, Rome

<sup>3</sup>Food Science and Nutrition Unit, Campus Bio-Medico University, Rome

<sup>4</sup>Unit of Electronics for Sensor Systems, Campus Bio-Medico University of Rome

I vegetali di IV gamma sono quei prodotti ortofrutticoli confezionati che, subito dopo la loro raccolta, sono sottoposti a processi tecnologici atti a garantirne la sicurezza igienica e possono pertanto essere consumati direttamente crudi. I prodotti di quarta gamma prevedono una filiera complessa, che include più fasi di trasformazione a cui può essere associato uno specifico rischio di contaminazione, e questo, insieme al consumo a crudo, all'esteso periodo di conservabilità (*shelf-life*) (fino a 7 giorni in atmosfera modificata), in presenza di un eventuale patogeno, potrebbe costituire un pericolo per il consumatore. Inoltre le superfici di taglio e il rilascio di nutrienti intracellulari possono rappresentare un'ulteriore opportunità di crescita per i patogeni. Al fine di garantire le buone prassi igienico-sanitarie è necessario, dunque, che le aziende produttrici dispongano di un piano di autocontrollo che garantisca ottimali condizioni igienico-sanitarie degli ambienti

di lavoro e del personale; tuttavia, i costi in termini economici e logistici delle procedure analitiche standard possono essere notevoli, soprattutto per le piccole e medie imprese, che costituiscono la maggior parte del tessuto socioeconomico italiano. Per tutti questi motivi, sono state sviluppate nel tempo metodiche alternative a quelle di riferimento. La qualità microbiologica di alcune tipologie selezionate di prodotti ortofrutticoli di quarta gamma è stata seguita durante la *shelf-life* specificata dal produttore, in particolare con riferimento ai parametri indicati nella normativa vigente, secondo i protocolli standard ISO, per la ricerca di microrganismi patogeni di interesse (*Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 e *Salmonella* spp.). È stato inoltre valutato l'andamento della carica mesofila totale, considerato un indicatore generico di igiene di processo, mettendo a confronto il metodo standard della conta su piastra con il metodo alternativo Micro Biological Survey (MBS). Dai risultati ottenuti nella presente ricerca emerge come, nonostante il progresso tecnologico e la definizione di direttive sempre più stringenti nell'ambito della sicurezza alimentare, permangano dei punti critici nella filiera agroalimentare di prodotti ortofrutticoli di quarta gamma che possono pregiudicare la qualità microbiologica del prodotto finale. Sarebbe, pertanto, desiderabile implementare una rete capillare di controlli microbiologici per una sempre migliore protezione della salute pubblica. La presente sperimentazione conferma come il metodo MBS possa costituire uno strumento di supporto valido nell'ambito dell'autocontrollo aziendale applicato ai prodotti di quarta gamma, ai fini di una migliore gestione dei rischi all'interno dell'azienda agroalimentare.

*Finanziato parzialmente da: Regione Lazio - Progetto Gruppo di Ricerca n. prot. 85-2017-13724 - Conoscenza e cooperazione per un nuovo modello di sviluppo (L.R. 13/2008 - art. 4); MIUR - Dipartimenti di Eccellenza (Science Department, Roma Tre University -, Articolo 1, Commi 314-337 Legge 232/2016).*



L'Istituto Nazionale di Biostrutture e Biosistemi (INBB) - Istituto Nazionale Biostrutture e Biosistemi - è un Consorzio interuniversitario che ha ricevuto il riconoscimento della personalità giuridica con un decreto del Ministero (MIUR - Ministero per l'Istruzione, la Ricerca e l'Università) dell'11 / 12 / 1995 ed è supervisionato dallo stesso Ministero. Il MIUR nomina due membri nel Consiglio di amministrazione e tre membri del Collegio dei revisori dei conti (il cui presidente è un funzionario del ministero dell'Economia). I due principali enti di ricerca pubblici italiani (CNR - Consiglio Nazionale delle Ricerche e ENEA - Ente Nazionale per le Energie Alternative) nominano anche un membro nel Consiglio di amministrazione. La sede del Consorzio è a Roma.

L'attività INBB consiste principalmente nella gestione di progetti scientifici di ricerca e formazione (sia nazionali che internazionali), le Unità di Ricerca INBB sono direttamente attivate presso le università associate; un particolare interesse è riservato ai programmi dell'Unione europea. Grazie ai progetti realizzati e al prestigio delle pubblicazioni dei ricercatori aderenti, il Consorzio ha avuto un giudizio molto positivo nell'ambito delle esercitazioni VQR (Ricerca Qualità) 2006/10 e 2010/14 di ANVUR.

Solo le università pubbliche italiane sono ammesse nel Consorzio; nel 2019 aderiscono al Consorzio 24 atenei, articolati in 9 sezioni che raggruppano più università.

Più di 630 ricercatori universitari (per lo più professori ordinari e associati) aderiscono al I.N.B.B., essi sono stati ammessi sulla base di una valutazione selettiva delle loro pubblicazioni scientifiche. Ognuno di loro aderisce ad una delle sei aree di ricerca previste dallo Statuto del Consorzio: Biomolecole, Biostrumentazioni e Bioelettronica, Biosistemi e Biostrutture, Biotecnologie, Unità funzionali biologiche supramolecolari, Cellule.

L'I.N.B.B., che è un Consorzio senza fini di lucro, ha ottenuto, come gli altri otto Consorzi di ricerca (CIRT) riconosciuti dal MIUR e autonomamente sottomissionati alla VQR, un contributo finanziario permanente da parte del MIUR.

Sono attive più di trenta posizioni lavorative in media all'anno, prevalentemente per giovani ricercatori, considerando dipendenti, borse di studio e contratti di ricerca. Il 90% di queste risorse sono dedicate esclusivamente ai temi scientifici.

Inoltre, a partire dal 2014, INBB ha aderito alla rete "NORTH SOUTH TRAINEESHIP", coordinata dall'Università di Tor Vergata (Roma) per organizzare tirocini per studenti e laureati in aziende europee e istituti di ricerca; circa 50 i tirocinanti di I.N.B.B. che hanno fatto la loro prima esperienza lavorativa in Europa.

Il Consorzio INBB, oltre alle Unità di ricerca istituite dalle università partner, ha istituito negli anni un Laboratorio Nazionale presso l'Università di Sassari con la Divisione di Medicina di Genere; un laboratorio sugli Interferenti Endocrini a Napoli, dal quartier generale del Consiglio Nazionale delle Ricerche - CNR e un laboratorio a Bologna sulle cellule staminali presso l'Area di Ricerca del CNR.

### **Obiettivi specifici**

Il Consorzio Interuniversitario I.N.B.B., secondo il suo statuto, opera con questi obiettivi.

- Procedere alla costituzione e alla gestione delle sue sezioni e dei laboratori nazionali di ricerca e, successivamente agli accordi convenzionali, costituisce unità di ricerca di organizzazioni di ricerca pubbliche e private;
- Incoraggiare lo sviluppo della cooperazione scientifica tra le università partner e altri istituti di ricerca pubblici e privati, nazionali e internazionali, che operano nel campo delle Biostrutture e dei Biosistemi;
- Fornire alle università partecipanti attrezzature, laboratori e centri che possano supportare il lavoro dei dottori di ricerca e nella formazione dei ricercatori;
- Promuovere e incoraggiare, compresa la concessione di borse di studio e di ricerca, la preparazione di esperti nella ricerca di base, negli sviluppi tecnologici e nelle applicazioni di Biostrutture e Biosistemi;
- Fornire alle università partecipanti attrezzature, laboratori e centri che possano supportare il lavoro dei dottori di ricerca e nella formazione dei ricercatori;
- Promuovere e incoraggiare, compresa la concessione di borse di studio e di ricerca, la preparazione di esperti nella ricerca di base, negli sviluppi tecnologici e nelle applicazioni di Biostrutture e Biosistemi;
- Trasferimento di risultati di ricerca nazionali e internazionali nel settore sanitario e nel settore industriale, comprese le attività pianificate e finanziate ai sensi del Decreto Legislativo n. 297/99 e successivi regolamenti;
- Essere responsabile, in collaborazione con le principali organizzazioni ambientali e l'industria sanitaria, dell'implementazione di materiali, prodotti e attrezzature tecnologicamente avanzate;
- Condurre studi e ricerche ordinate per organizzazioni governative, istituzioni pubbliche e private, aziende pubbliche

e private, fornendo loro mezzi e supporto relativi alle problematiche nella loro area di competenza;

- Partecipare allo studio, all'attuazione e alla gestione di iniziative nel quadro di progetti scientifici e accordi di cooperazione internazionale, compresa la partecipazione a società.

### **Piattaforme e progetti di ricerca**

La produzione di ricerca è il primo obiettivo di I.N.B.B.; nell'ultima valutazione effettuata dal MIUR (2012) di tutti i consorzi di ricerca italiani, INBB ha ottenuto un ottimo posizionamento in classifica: secondo su quindici con 99,5 / 100. Buoni risultati sono stati ottenuti anche negli esercizi nazionali di valutazione della ricerca realizzati dall'ANVUR (Autorità nazionale per la valutazione delle università e degli organismi di ricerca). Il prossimo esercizio di ANVUR sarà lanciato nel 2019 e per il periodo 2015-18 sono già stati pubblicati oltre 300 articoli scientifici, la maggior parte dei quali su riviste con alto impact factor e indice H.

Partendo dalla sua tradizione di alta qualità, nel corso del 2014 il Consorzio I.N.B.B. ha deciso di considerare gran parte delle sue attività di ricerca divise su sei piattaforme I.N.B.B.

Le Unità di ricerca sono attivamente coinvolte in due direzioni: partecipazione a programmi regionali, nazionali, europei e internazionali e ricerca cooperativa con imprese pubbliche e private. Per citare solo alcuni esempi: nel 2014 I.N.B.B. presentato, nell'ambito del bando Horizon 2020 PHC-10-2014, come coordinatore di una partnership con 13 istituzioni dell'UE e aziende la proposta Ultraplacad (dispositivi PLASmonic ULTRASensibili per la diagnosi precoce del carcinoma) sulla scoperta precoce e non invasiva del tumore del colon; è stato premiato come primo (voto 15/15) su 461, iniziato nel 2015 ha terminato con successo la sua attività nel dicembre 2018. Nel

2017 INBB come coordinatore ha vinto un ambizioso progetto COST: BIONECA "Biomateriali e tecniche fisiche avanzate per cardiologia rigenerativa e neurologia"; ha più di 70 ricercatori affiliati provenienti da 40 Paesi (uno dei più grandi in Europa) e ha già prodotto due nuove proposte all'interno di H-2020 Horizon; tre riunioni dell'intera rete, una scuola di formazione e diverse missioni scientifiche a breve termine.

Inoltre l'I.N.B.B. è attivamente coinvolto in attività di ricerca condotte congiuntamente o per conto di società e istituzioni nazionali ed estere; negli ultimi cinque anni sono stati avviati circa 90 contratti di ricerca (e la maggior parte di essi sono stati conclusi) in tutti i settori delle scienze della vita, dalla farmacologia, dell'ambiente, sul cancro, sulle malattie rare e sulle cellule staminali. Queste attività, oltre a rafforzare la rete del Consorzio, hanno permesso, in alcuni casi, la pubblicazione di articoli scientifici pertinenti e l'attivazione di contratti di ricerca con diverse dozzine di giovani ricercatori.

Ad esempio nel 2017 si è conclusa con successo il progetto "Screening sistematico di nuovi marcatori diagnostici e bersagli terapeutici in oncologia" su un approccio genomico funzionale integrato su larga scala, basato su screening selettivi di guadagno e perdita di funzione, volti a identificare trascrizioni codificanti e non codificanti che guidano la trasformazione neoplastica o modulano la risposta delle cellule tumorali ai trattamenti mirati. Tale progetto è stato finanziato dal Fondo di ricerca nazionale del Qatar e, come risultato tecnologico, il progetto consentirà la ricerca genomica funzionale in Qatar. L'AIRC (Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro) ha affidato all'INBB due importanti progetti di ricerca: "Regolazione trascrizionale della longevità degli enterociti da parte dei co-attivatori del recettore dell'ormone nucleare: rilevanza nel cancro del colon" e "Asse metabolico epatico nel carcinoma del colon e epatocarcinoma:

ruolo di recettori nucleari e enterokine "che sono ora in una fase avanzata e hanno già prodotto risultati molto interessanti. Inoltre, è importante sottolineare anche le attività di ricerca congiunta organizzate direttamente con società private; tra queste, negli ultimi anni, ci sono: il progetto "L'uso della vibrazione meccanica (acustica/subsonica) ed elettromagnetica per un nuovo paradigma nella medicina rigenerativa e nel benessere umano" ora supportato da Eldor Corporation, uno dei leader mondiali nel settore automobilistico; il cui scopo è la creazione di attuatori vibrazionali multifrequenza. Entrambe queste ricerche sono eseguite a Bologna dal laboratorio INBB sulle cellule staminali.

### **Trasferimento tecnologico**

A partire dal 2016 I.N.B.B. ha implementato una seconda linea di attività, legata al trasferimento tecnologico di alcuni dei risultati più promettenti della ricerca dei suoi membri. Dopo un appropriato processo di selezione, I.N.B.B. ha identificato Cube Labs come partner di riferimento per incoraggiare l'accelerazione dell'innovazione, condividendo il suo modello di valorizzazione dei risultati della ricerca e il suo approccio pragmatico e olistico ai bisogni dei singoli ricercatori.

Nel 2017 è stato firmato un secondo accordo quadro tra le due istituzioni volto a rendere operativo ciò che era già stato realizzato nei mesi precedenti e il Consiglio Direttivo I.N.B.B. ha approvato un regolamento interno sulla partecipazione a società finalizzate alla ricerca. Il CD si impegna a proporre, dopo un'adeguata selezione, alcune delle migliori attività di ricerca dei suoi membri con un potenziale di mercato oggettivo ai Cube Labs in modo che possano essere sottoposti ad analisi e, in caso affermativo, dare origine a ricadute di ricerca.

L'elenco degli spin-off realizzati e già attivi è di seguito riportato.

- **DTech Srl** – Piero Chiarelli (CNR Pisa) Data Costituzione dicembre 2017. Cura di infezioni semplici e complesse del cavo orale e degli impianti dentali con un idrogel biocompatibile in grado di aderire a tessuti duri e molli.
- **Biodiapers Srl** – Piero Chiarelli (CNR Pisa) Data costituzione dicembre 2017. Realizzazione di prodotti completamente biodegradabili destinati al controllo dell'assorbimento infantile, femminile e senile.
- **Cartilago Srl** - Roberto Scandurra (Roma "Sapienza") Data costituzione dicembre 2017. Sviluppo di un progetto innovativo sull'uso di due derivati peptidici che risultano efficaci nel controllo delle infiammazioni articolari e nella stimolazione di nuovo tessuto cartilagineo.
- **Adamas Biotech Srl** – Saverio Bettuzzi (Univ. Parma) Data costituzione aprile 2018. Ricerca e sviluppo di sostanze naturali (catechine del tè verde) nel settore della cura della salute e della persona.
- **Rescue Code Srl** – Massimo Massetti (Gemelli, Roma) Data costituzione dicembre 2018. Ricerca e sviluppo di prodotti del settore cardiologico e cardochirurgico con focalizzazione su strumentazioni innovative.
- **Orpha Biotech Srl** – Amato De Paulis (Univ. Napoli) Data costituzione dicembre 2018. Ricerca, Sviluppo, sperimentazione, produzione e commercializzazione di prodotti del settore delle malattie orfane.
- **MRC Srl** – Salvatore Guccione (Univ. Catania) Data costituzione dicembre 2018. Società di CRO per la ricerca e lo sviluppo e la produzione di molecole

innovative derivate dalla ricerca nei settori della nutraceutica, alimenti ed integratori alimentari, farmaci e parafarmaci

- **Bio-Aurum Srl** - Silvia Bisti (Univ. L'Aquila) Data costituzione dicembre 2018. Realizzazione di prodotti a base di zafferano per l'uso in malattie neurodegenerative e nelle patologie a carico del sistema nervoso e di altri organi.
- **Lumina NanoBiotech Srl** – Aldo Roda (Univ. Bologna) Data costituzione dicembre 2018. Ricerca e sviluppo, di strumentazioni e biosensori portatili e miniaturizzati ad elevate prestazioni analitiche in campo diagnostico chimico-clinico, biomolecolare ed oncologico.
- **Skin Plastic Srl** – Giovanni Papa (Univ. Trieste) Data costituzione maggio 2019. Ricerca e sviluppo nel settore della dermatologia ed in particolare nel settore della chirurgia plastica, ricostruttiva ed estetica.

Nel frattempo, per gli spin-off esistenti, la valorizzazione per il mercato è già stata implementata, anche con l'attività di raccolta fondi e contatti qualificati con importanti interlocutori commerciali.

**Lo statuto del Consorzio ed altre informazioni sono reperibili sul sito: [www.inbb.it](http://www.inbb.it).**