



***ATTI***  
***XV CONVEGNO NAZIONALE***

***“Nuove strategie di ricerca integrata  
su Salute, Alimentazione e  
Ambiente”***

**CENTRO CONVEGNI CAVOUR**

***ROMA, 10-11 LUGLIO 2025***

### ***Comitato Scientifico***

Angela Amoresano  
Giovanni Antonini  
Oliana Carnevali  
Roberto Corradini  
Marta Lombó Alonso  
Alberta Mandich  
Pietro Ragni  
Francesco Ricci  
Giuseppe Spoto  
Filippo Surace

### ***Comitato Organizzativo***

Cristiana Citton  
Deborah Di Lorenzo  
Lucia Occhioni

## ***INDICE***

<b>Programma Convegno Nazionale</b>	<b><i>Pag. 5</i></b>
<b>Introduzione del Presidente</b>	<b><i>Pag. 11</i></b>
<b>Tavola Rotonda</b> <b><i>“Riorganizzazione e Ricerca fattori strategici per la Sanità”</i></b>	<b><i>Pag. 25</i></b>

### **Abstract comunicazioni scientifiche**

<b><i>Agrifood: strategie innovative e interdisciplinari</i></b>	<b><i>Pag. 43</i></b>
<b><i>Interferenti Endocrini: strategie innovative per il benessere dell’uomo e degli ecosistemi</i></b>	<b><i>Pag. 59</i></b>
<b><i>Biosensori per la salute, l’ambiente e l’alimentazione</i></b>	<b><i>Pag. 77</i></b>
<b><i>Spin Off e trasferimento tecnologico</i></b>	<b><i>Pag. 91</i></b>
<b><i>Poster giovani ricercatori</i></b>	<b><i>Pag. 111</i></b>



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

## ***Programma***

### ***GIOVEDÌ 10 LUGLIO***

***h. 9,00 Registrazione dei partecipanti***

***h. 9,30 Apertura dei lavori***

PROF. GIOVANNI ANTONINI - Presidente INBB e Direttore Dip. Scienze  
Univ. Roma Tre

***h. 9,50 - 11,50***

*Tavola Rotonda:*

***“Riorganizzazione e Ricerca fattori strategici per la Sanità”***

*Chair:* DOTT. PIETRO RAGNI - Direttore INBB

PROF. MASSIMO MASSETTI - Dir. CUORE Policl. Gemelli

PROF. ANTONIO MOSCHETTA - Univ. Bari

PROF. CARLO VENTURA - Univ. Bologna

E' stato inviato a partecipare il il Ministro della Salute, Prof. ORAZIO  
SCHILLACI

**h. 11,50 - 13,40**

*Sessione:*

***“Agrifood: strategie innovative e interdisciplinari”***

Chair: PROF.SSA ANGELA AMORESANO - Univ. Napoli “Federico II”  
Responsabile Lab. Naz. INBB e PROF. ROBERTO CORRADINI- Univ.  
Parma

PROF.SSA ROSANGELA MARCHELLI - (già) membro del Panel NDA  
(Nutrition, Novel Foods and Food Allergy) e dei Working Groups on  
Novel Foods e Food Allergy dell’European Food Safety Authority  
(EFSA) “I Novel Foods: Valutazione del Rischio”

PROF. MARCO GIANNETTO - Univ. Parma “Piattaforme sensoristiche  
ad alte prestazioni per lo screening multiallergenico: innovazioni  
analitiche nella sicurezza alimentare”

DOTT. LUCA LOVATTI - Consorzio Melinda S.c.a “Bioeconomia  
circolare nell’ortofrutta: innovazioni del Consorzio Melinda”

DOTT. PAOLO DOSSETTO – AB Sciex “Nuove frontiere tecnologiche  
garantiscono robustezza, sensibilità e stabilità per l’analisi dei PFAS  
negli alimenti”

DOTT.SSA ALESSIA SILLA - Univ. Bologna, Incos Cosmeceutica  
Industriale “Valorizzazione dei sottoprodotti agricoli: utilizzo di  
estratti Green per la salute della mucosa orale”

PROF. STEFANO MATERAZZI - Univ. “Sapienza” Roma “Micro NIR per  
analisi di alimenti: il vantaggio delle analisi in campo”

***h. 13,40      Pausa Pranzo e Poster***

**h. 14,30 - 16,30**

*Sessione:*

***“Interferenti Endocrini: strategie innovative per il benessere dell’uomo e degli ecosistemi”***

Chair: PROF.SSA OLIANA CARNEVALI - Univ. Politecnica Marche, PROF.SSA ALBERTA MANDICH - Univ. Genova e DOTT.SSA MARTA LOMBÓ ALONSO - Univ. Leon (Spagna)

DOTT.SSA CINZIA LA ROCCA – Istituto Superiore Sanità Roma  
“Interferenti endocrini: stato dell’arte”

PROF.SSA ANNALISA ZACCARONI - Univ. Bologna “Microplastiche nei vertebrati marini: problemi e possibili soluzioni”

DOTT.SSA SUSANNA DRAGHI - Univ. Milano “Mammiferi selvatici terrestri come strumenti di biomonitoraggio per gli interferenti endocrini”

DOTT. ANDREA DI CREDICO - Univ. Chieti “L’effetto degli interferenti endocrini sul neurosviluppo: evidenze da organoidi cerebrali derivati da iPSC umane”

PROF. FRANCESCO PALERMO - Univ. Camerino “Valutazione dell’impatto di contaminanti emergenti ad azione ormono-simile sulla fauna marina”

PROF.SSA FRANCESCA MARADONNA - Univ. Politecnica Marche  
“Alimentazione e interferenti endocrini: come ridurre i rischi tossici con la dieta”

**h. 16,30 - 18,30**

*Sessione:*

***“Biosensori per la salute, l’ambiente e l’alimentazione”***

Chair: PROF. FRANCESCO RICCI - Univ. “Tor Vergata” Roma e PROF. GIUSEPPE SPOTO - Univ. Catania

PROF. DARIO COMPAGNONE - Univ. Teramo “Film nanostrutturati mediante laser per lo sviluppo di (bio)sensori elettrochimici”

PROF.SSA SIMONA RANALLO - Univ. “Tor Vergata” Roma “Sistemi basati sugli acidi nucleici: nuovi approcci per la rilevazione ultrasensibile di biomarcatori”

DOTT.SSA NOEMI BELLASSAI - Univ. Catania “Recenti sviluppi nei biosensori plasmonici per la rivelazione ultrasensibile di polimorfismi a singolo nucleotide in biopsia liquida”

DOTT. SIMONE FORTUNATI - Univ. Parma “La Medicina di Laboratorio presso il paziente: biosensori portatili smart per la diagnostica Point-of-Care”

DOTT.SSA VALENTINA GALLO - Univ. Roma Tre “Sviluppo di un dispositivo diagnostico in vitro basato su immuno-SERS per la rilevazione ultrasensibile e rapida di biomarcatori tumorali”

***h. 18,30***      ***Chiusura dei lavori della I giornata***

## **VENERDÌ 11 LUGLIO**

**h. 9,30 - 11,30**

*Sessione:*

**“Spin Off e trasferimento tecnologico”**

Chair: DOTT. PIETRO RAGNI - Direttore INBB e DOTT. FILIPPO SURACE- CEO CUBE LABS

PROF. MARCO FALASCA - Univ. Parma “Lipovexa nuove strategie per le malattie metaboliche”

PROF.SSA MARGHERITA MAIOLI - Univ. Sassari “Myrtoviva: estratti naturali per il ringiovanimento cutaneo”

PROF. GIOVANNI PAPA - Univ. Trieste “Skin Plastic Lab e Regenerabioma due spin off per la rigenerazione della cute”

PROF. LUCA PRODI - Univ. Bologna “FluoDetect: uno spin off per rilevare micro e nanoplastiche nell’ambiente”

PROF. PIERLUIGI RESCHIGLIAN - Univ. Bologna. “Stem Sel®: your best *collection*”

PROF.SSA ANNA SCOTTO D’ABUSCO - Univ. “Sapienza” Roma “Riparazione tissutale e non solo. Cartilago uno spin off di successo”

**h. 11,30**      ***Premiazione dei poster in concorso***

**h. 12,30**      ***Chiusura del Convegno***



## **INTRODUZIONE DEL PRESIDENTE DEL CONSORZIO INBB**

***Giovanni Antonini***

*Presidente Consorzio Interuniversitario INBB;*

*Direttore Dipartimento di Scienze dell'Università Roma Tre*

Care amiche e cari amici, care colleghe e cari colleghi e autorità,  
È con enorme piacere che inauguriamo oggi il XV Convegno Nazionale INBB dal titolo “**Nuove Strategie di Ricerca Integrata su Salute, Alimentazione e Ambiente**”.

Permettetemi innanzitutto di salutare e ringraziare i membri del Consiglio Scientifico e del Comitato Organizzatore che hanno permesso lo svolgimento del convegno. È con grande riconoscenza che ringrazio gli sponsor Coswell, CUBE LABS, Melinda, Sciex e SOLS. Come anche ringrazio, anche a nome del Convegno, tutti i relatori che hanno accettato di partecipare ai vari panel del Convegno. Malgrado di regola i Convegni Nazionali INBB si siano in passato tenuti in autunno, la Giunta Esecutiva ed il Consiglio Direttivo dell'INBB hanno pensato di anticipare il periodo dell'anno per evitare sovrapposizioni con altri congressi, lezioni ed altri impegni accademici. Desidero ringraziare innanzitutto le nostre collaboratrici Cristiana, Deborah e Lucia, senza le quali non sarebbe stato possibile niente di ciò che è stato fatto. In secondo luogo desidero sottolineare e ringraziare la direzione attenta e puntuale del dr. Pietro Ragni, la collaborazione dei vice-presidenti prof.ssa Angela Amoresano e prof. Francesco Ricci, della Giunta Esecutiva e del Consiglio Direttivo, il Consulente amministrativo Dott. Giuseppe di Battista e la costruttiva attenzione dei componenti del Collegio dei Revisori Dott. Alessandro Carrato, Dott. Vittorio Melchionda e Dott. Fabio Matarazzo.

## **SITUAZIONE CONSORTILE**

L'Istituto Nazionale di Biostrutture e Biosistemi è un Consorzio interuniversitario di Ricerca Tematica (CIRT) nato nel '93; ha ricevuto il riconoscimento della personalità giuridica con un decreto del Ministero (MIUR - Ministero per Istruzione, Ricerca e Università) dell'11/12/'95 ed è supervisionato dallo stesso Ministero, che nomina due membri del Consiglio Direttivo del Consorzio ed i 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 essi un membro nel Consiglio Direttivo. L'ISTAT ha recentemente (marzo 2025) categorizzato l'INBB fra gli enti non profit di ricerca e sviluppo; siamo stati anche recentemente riconosciuti come ente non profit dall'ente certificatore USA. **Lo statuto del Consorzio ed altre informazioni sono reperibili sul sito: [www.inbb.it](http://www.inbb.it).**

Solo le **università pubbliche italiane** sono ammesse nel Consorzio; nel 2024 aderiscono al Consorzio **23 atenei**, distribuiti su 15 delle regioni Italiane e articolati in varie sezioni che raggruppano più università.

Inoltre, sono attivi **quattro Laboratori Nazionali I.N.B.B.:**

- Laboratorio Nazionale per la Farmacologia e Medicina di Genere, Univ. Sassari (Resp. Prof.ssa Flavia Franconi);
- Laboratorio Nazionale per “Studi avanzati sulle cellule staminali” in Bologna (Resp. Prof. Carlo Ventura);
- Laboratorio Nazionale su “Proteomica e Metabolomica per l'ambiente e la salute” (ProMetAS) presso l'Univ. Federico II di Napoli (Resp. Prof.ssa Angela Amoresano);
- Laboratorio Nazionale “Nanomateriali per l'Ambiente e la Salute” (NAmSa) presso l'Univ. Roma Tre (Resp. Prof. Giovanni Antonini).

All'I.N.B.B. aderiscono circa 700 ricercatori universitari (per lo più Professori ordinari e 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, individuati nello statuto: Biomolecole, Biostrumentazione e Bioelettronica, Biosistemi e Bioregolazioni, Biotecnologie, Unità Funzionali Biologiche Supramolecolari, Cellule.

L'attività dell'I.N.B.B. consiste prevalentemente nel coordinamento scientifico e gestionale (in ambito nazionale ed internazionale) di progetti di Ricerca e Formazione, che vedono impegnate direttamente le Unità di Ricerca I.N.B.B. presso gli atenei consorziati. In particolare, il Consorzio Interuniversitario I.N.B.B., secondo il suo statuto, opera con gli obiettivi di seguito indicati.

- 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.
- Realizzare attività di trasferimento tecnologico dei risultati di ricerche nazionali e internazionali nel settore sanitario, ambientale ed agro-alimentare, comprese le attività pianificate e finanziate ai sensi del Decreto Legislativo n. 297/99 e successivi regolamenti.
- Realizzare, in collaborazione con le principali organizzazioni ambientali e l'industria sanitaria, dell'implementazione di materiali, prodotti e attrezzature tecnologicamente avanzate.

- Condurre studi e ricerche commissionate da organizzazioni governative, istituzioni pubbliche e private, aziende pubbliche e private, impiegando le risorse a supporto delle problematiche nelle varie 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 nuove società.

Tra le misure di supporto che l'INBB offre ai propri aderenti, è opportuno ricordare:

- supporto della Direzione INBB nella presentazione di progetti nazionali ed europei;
- sviluppo di network tematici di ricerca e partecipazione alle iniziative scientifiche del Consorzio;
- possibile partecipazione come Consorzio (con una o più Unità di Ricerca) a cordate progettuali e maggiore facilità di “collaborazioni di filiera” nella elaborazione di progetti complessi;
- procedure semplificate per l'amministrazione dei contratti e dei progetti pubblici;
- possibili facilitazioni finanziarie da parte del Consorzio per gli aderenti in attesa dei fondi;
- rapporti semplificati e flessibili con aziende private;
- una efficace Procedura per il Trasferimento Tecnologico;
- incremento delle risorse economiche acquisite dalle università ai fini del calcolo dell'FFO per le università.

### ***RISORSE***

L'I.N.B.B. ha ottenuto, come gli altri otto Consorzi di ricerca (CIRT) riconosciuti dal MIUR e autonomamente sottomessi alla VQR, un contributo finanziario da parte del MIUR ed ora dal MUR.

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, dal 2014 al 2021, INBB ha aderito alla rete "NORTH SOUTH TRAINEESHIP", coordinata dall'Università di Tor Vergata (Roma), per organizzare tirocini per studenti e laureati in aziende e istituti di ricerca europei; circa 60, nel primo quinquennio, i tirocinanti di I.N.B.B. che hanno fatto la loro prima esperienza lavorativa in Europa.

INBB è un Consorzio universitario che, nei più di 5 lustri di vita, si è caratterizzato costantemente per una sana gestione, tal che, pur in presenza di una crisi generalizzata come quella causata dalla chiusura di tutte le attività economiche per l'epidemia di Covid-19, non ha mai evidenziato problemi di *going concern* e pertanto sceglie di predisporre il bilancio d'esercizio con il presupposto di continuità. Ha un patrimonio netto di circa cinquecentomila Euro ed un bilancio chiusosi sempre in attivo negli ultimi quindici anni.

INBB ha una particolare attenzione alle attività di disseminazione delle informazioni e dei risultati delle attività di ricerca e di formazione realizzate. Oltre a specifiche iniziative condotte nell'ambito degli specifici progetti o dei contratti in essere, INBB ha, fin da poco dopo la sua fondazione, organizzato un Convegno Nazionale ogni due anni, rivolto ai suoi aderenti ed in generale a tutta la comunità scientifica di riferimento.

### ***PIATTAFORME E PROGETTI DI RICERCA***

La produzione di ricerca è il primo obiettivo di I.N.B.B.; nell'ultima valutazione effettuata direttamente 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). L'ultimo esercizio di ANVUR è stato lanciato nel 2021, per il periodo 2015-19; INBB ha partecipato

selezionando alcuni fra gli oltre 300 articoli scientifici pubblicati, la maggior parte dei quali su riviste con alto impact factor e indice H, e riportando vari casi di studio di successo.

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. ha presentato come coordinatore, nell'ambito del bando Horizon 2020 PHC-10-2014, con una partnership di 13 istituzioni di ricerca e aziende (in 7 paesi dell'UE) la proposta Ultraplacad (dispositivi PLAsmonic ULTRASensibili per la diagnosi precoce del carcinoma) sulla scoperta precoce e non invasiva del tumore del colon; essa fu premiata come prima (voto 15/15) su 461 concorrenti. Il progetto iniziò nel 2015 ed ha terminato con successo la sua attività nel dicembre 2018; è stato segnalato nel 2023 come uno dei migliori progetti in ambito oncologico a livello UE. Nel 2017 I.N.B.B., come coordinatore, ha vinto un ambizioso progetto COST: BIONECA "Biomateriali e tecniche fisiche avanzate per cardiologia rigenerativa e neurologia"; che, con più di 70 ricercatori affiliati provenienti da 40 Paesi, risulta essere uno dei più grandi COST in Europa ed ha prodotto due nuove proposte all'interno di H-2020 Horizon; quattro riunioni dell'intera rete, tre scuole di formazione e numerose missioni scientifiche a breve termine, concludendosi con successo nel 2021.

Inoltre l'I.N.B.B. è attivamente coinvolto in attività di ricerca condotte congiuntamente o per conto di società e istituzioni nazionali ed esteri; 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, all'ambiente, a ricerche sul cancro, alle malattie rare ed alle 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 hanno già prodotto risultati molto interessanti. Nel 2020 l'AIRC ha affidato all'INBB un nuovo progetto triennale in prosieguo delle ricerche condotte già con successo.

### ***TRASFERIMENTO TECNOLOGICO***

A partire dal 2016 I.N.B.B. ha implementato la linea di attività legata al trasferimento tecnologico di alcuni dei risultati più promettenti della ricerca dei suoi aderenti. 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 2020 abbiamo rafforzato con un Accordo Quadro con Cube Labs la collaborazione già avviata, in modo che diventi un'azione congiunta strategica per il prossimo futuro, tale collaborazione è stata prorogata a tutto il 2025.

Siamo stati in grado in otto anni (dal 2017 al 2024) di costituire, insieme con Cube Labs, 15 spin off nell'ambito delle Scienze della Vita, il cui elenco 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.
- **Molecular Research Pharmact Srl** – Salvatore Guccione (Univ. Catania) Data costituzione dicembre 2018. Società si occupa della profilazione, progettazione e riposizionamento dei farmaci tramite attività di analisi computazionale e dello sviluppo di nuove soluzioni nel settore delle malattie rare,

nelle malattie neurodegenerative e nell'area terapeutica oncologica.

- **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 Lab 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.
- **Crati River Valley Medical Industries Srl** – Guido Danieli (Univ. Calabria) Data costituzione ottobre 2020. Ricerca e sviluppo di sistemi parzialmente robotizzati per interventi endovascolari assistiti con procedura TAVI per risolvere patologie della valvola aortica e in particolare stenosi aortica e steno-insufficienze.
- **Regenerabioma Srl** – Giovanni Papa (Univ. Trieste) Data costituzione dicembre 2023. Ricerca e sviluppo di un sistema per il trattamento delle ferite complesse, utilizzando materiali biocompatibili e basato sul microbioma particolarmente dedicato a ferite complesse e croniche correlate al diabete.
- **Myrtoviva Srl** – Margherita Maioli (Univ. Sassari) Data costituzione dicembre 2023. Ricerca e sviluppo di prodotti unici ed innovativi a base di Myrtus Communis L. con il fine di prevenire la senescenza prematura delle cellule cutanee dovuta allo stress ossidativo.
- **Lipovexa Srl** – Marco Falasca (Univ. Parma) Data costituzione dicembre 2024. Ricerca e sviluppo di prodotti

nutraceutici e medicinali per il trattamento del diabete, il controllo dell'obesità e il mantenimento della salute epatica.

- **FluoDetect Srl** – Luca Prodi (Univ. Bologna) Data costituzione dicembre 2024. Ricerca e sviluppo di strumenti per la rilevazione delle micro- e nano-plastiche, in matrici ambientali e biomediche *in vitro*. L'innovazione del prodotto progettato risiede nell'alta risoluzione e nella possibilità di discernere tra diverse microplastiche.

Nel frattempo, per molti fra 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 finanziari e commerciali, ad iniziare dalla Cassa Depositi e Prestiti.

È importante anche sottolineare che con ciascun spin off finanziato si sono stipulati accordi con INBB per un opportuno supporto operativo e scientifico che ha anche permesso l'attivazione di numerosi contratti con giovani ricercatori.

Nel marzo 2023 il partner strategico del Consorzio, Cube Labs, è stato ammesso al listino Euronext Growth Milan di Piazza Affari, nel segmento della borsa dedicato alle imprese innovative.

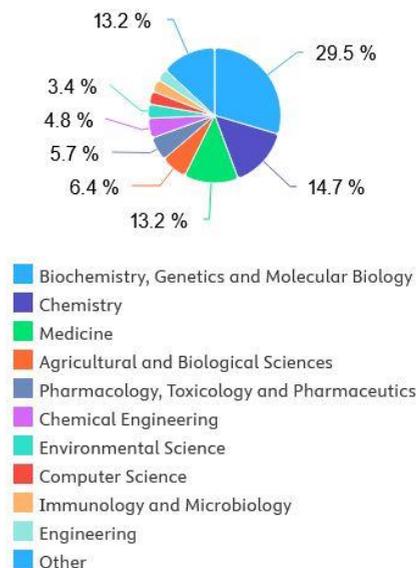
## ***PUBBLICAZIONI***

Negli ultimi dieci anni (2015-24) i professori ed i ricercatori afferenti all'INBB hanno pubblicato 912 articoli su riviste prestigiose nel campo della ricerca chimica, fisica e medica indicando in modo esplicito l'affiliazione al consorzio. Di tali pubblicazioni 697 sono posizionate nel primo quartile (Q1).

In Totale, su SCOPUS sono presenti 1533 pubblicazioni presentate da 89 ricercatori con affiliazione INBB. Tutte le pubblicazioni sono sul sito SCOPUS (consultato in data 10/03/2025: <https://www.scopus.com/affil/profile.uri?afid=60082163>).

Per quanto riguarda la classificazione delle pubblicazioni, sempre secondo SCOPUS, esse sono presenti nelle seguenti Aree.

Biochemistry, Genetics and Molecular Biology,"856"  
 Chemistry,"427"  
 Medicine,"384"  
 Agricultural and Biological Sciences,"186"  
 Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics,"166"  
 Chemical Engineering,"138"  
 Environmental Science,"98"  
 Multidisciplinary,"67"  
 Engineering,"84"  
 Materials Science,"60"  
 Immunology and Microbiology,"589"  
 Physics and Astronomy,"69"  
 Neuroscience,"48"



### ***PROGETTI FINANZIATI***

L'INBB, negli ultimi 10 anni (2015-24), ha coordinato e gestito numerosi progetti che si sono esplicitati nel finanziamento di € 1.972.217 per sei progetti europei, € 2.685.590 per nove progetti nazionali, € 435.472 per cinque progetti regionali, € 4.736.390 finanziati da sessantaquattro tra enti, associazioni e fondazioni nazionali ed internazionali e circa € 7.934.669 per novantanove contratti di ricerca con aziende farmaceutiche nazionali ed internazionali.

Di seguito, per rendere conto della consistenza economica che il Consorzio ha avuto negli ultimi cinque anni, si riportano i relativi valori della produzione estrapolati dai bilanci consuntivi annuali:

Anno 2019 € 2.413.034

Anno 2020 € 1.044.630

Anno 2021 € 1.395.859

Anno 2022 € 1.264.204

Anno 2023 € 1.284.638

Anno 2024 € 1.246.247

**I bilanci sono resi pubblici alla pagina**  
**<http://www.inbb.it/documenti/relazioni/>**

### ***VALUTAZIONE E VQR***

L' INBB ha sempre creduto nell'importanza della valutazione delle proprie attività di ricerca, infatti esercitava attività di autovalutazione fin dai primi anni della sua vita e si confrontava con la comunità scientifica di riferimento anche attraverso i Convegni nazionali organizzati ogni due anni (nel 2025 arriveremo alla quindicesima edizione). Quindi è stato valutato direttamente dal MIUR, fino al 2012 con i lusinghieri risultati già citati. Successivamente I.N.B.B. è stato uno degli allora 15 Consorzi Interuniversitari di Ricerca Tematica che si sono sottoposti volontariamente alla Valutazione della Qualità della Ricerca (VQR) da parte dell'Agenzia Nazionale di Valutazione del Sistema Universitario e della Ricerca (ANVUR) nella prima VQR (2004-2010), nella seconda VQR (2011-2014) e nella terza VQR (2014-2019), i cui positivi risultati sono disponibili alla pagina <https://www.anvur.it/attivita/vqr/> ed hanno permesso all'INBB di continuare ad avere un finanziamento da parte del Ministero dell'Università e Ricerca. L'INBB ha anche aderito volontariamente all'attuale VQR (2020-2024) i cui prodotti definitivi sono stati recentemente inseriti. Infine, con orgoglio abbiamo riscontrato che INBB ha ottenuto il più alto punteggio, fra i 9 CIRT concorrenti, assegnato da parte di ANVUR nell'ambito degli esiti della valutazione dei Progetti competitivi 2022 e 2023 finanziati con successivi Decreti ministeriali.

## ***CONCLUSIONI***

Care amiche e cari amici, in questo periodo di forti cambiamenti nell'Università e nel settore Ricerca nazionale, con forti riduzioni di risorse pubbliche destinate in entrambi i settori e nonostante la recente situazione pandemica, il nostro Consorzio Interuniversitario è stato fra i pochi 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.

È quindi con particolare orgoglio che presentiamo nel XV Convegno Nazionale INBB alcune delle principali attività di ricerca svolte da varie Unità Operative dell'INBB e, nella Tavola Rotonda, favoriamo una franca discussione sul settore della Sanità, un tema strategico per il nostro Consorzio, ma soprattutto per il Paese.

Con l'auspicio quindi che questo convegno possa rappresentare un momento di confronto costruttivo e di stimolo per nuove strategie di ricerca integrata su Salute, Alimentazione e Ambiente, dichiaro ufficialmente aperti i lavori del XV Convegno Nazionale dell'Istituto Nazionale Biostrutture e Biosistemi.



***TAVOLA ROTONDA***  
***“Riorganizzazione e Ricerca***  
***fattori strategici per la Sanità”***

## LA SANITÀ ITALIANA: UN VALORE DA DIFENDERE

*Pietro Ragni*

*Direttore Consorzio INBB*

Ebbi la fortuna di essere il più giovane collaboratore del Prof. Ruberti che era riuscito, nell'89, a creare il Ministero per l'Università e la Ricerca Scientifica e Tecnologica (MURST). Ricordo che, discutendo con il Prof. Fazio (uno dei fondatori del nostro Consorzio e poi anche Ministro per la Sanità), con somma ingenuità, gli raccontai, stupito, che quasi il 50% delle problematiche, segnalazioni, raccomandazioni che arrivavano al Ministero avevano a che fare con le facoltà di Medicina. Mi rispose che la sanità è l'unico ambito in cui si interviene direttamente sull'uomo e molti pazienti avevano relazioni con medici e professori, ecco la ragione di tante sollecitazioni. Inoltre sottolineò che avevamo, grazie alla Riforma Sanitaria di dieci anni prima, un sistema fra i migliori al mondo, a servizio della salute dei cittadini, cui le Università collaboravano.

Quelle parole mi sono tornate in mente varie volte in questi ultimi anni e in questi ultimi mesi: l'impreparazione iniziale durante la pandemia, la penuria di medici, infermieri e operatori sanitari, l'insufficienza delle risorse dedicate al settore, l'espatrio di un gran numero di giovani laureati, le carenze tecnologiche, soprattutto in alcune regioni. Recentemente poi sui media assistiamo a discussioni e denunce sulle lunghissime liste di attesa per effettuare le prestazioni necessarie, su una significativa percentuale di popolazione che rinuncia alle cure per ragioni economiche, sull'eccessiva privatizzazione delle strutture in alcune territori, sulla sperequazione dei trattamenti offerti ai cittadini nelle varie regioni italiane.

Per queste problematiche, vista la vocazione del nostro Consorzio, insieme con il Presidente ed il Consiglio Direttivo, abbiamo deciso di organizzare la tavola rotonda iniziale del Convegno proprio dedicandola al mondo della Sanità. Non è nostra intenzione fare

piagnistei, invece l'obiettivo di questo incontro è quello di partire dai dati per ipotizzare e suggerire opportuni interventi migliorativi del settore.

Quando abbiamo iniziato a organizzare l'evento abbiamo voluto invitare esponenti che operano sia direttamente nella sanità, sia nella ricerca medica. Pensiamo che questo sia un punto di forza per il nostro Consorzio, ma soprattutto è un punto di forza del Paese. Abbiamo un Sistema Sanitario Nazionale (SSN) avviato negli anni Settanta che, pur con varie pecche, resta uno dei sistemi più avanzati al mondo a favore dei cittadini; abbiamo una classe medica considerata fra le più preparate a livello mondiale, il comparto Salute è significativo per il Paese con imprese tecnologicamente avanzate e attente all'innovazione.

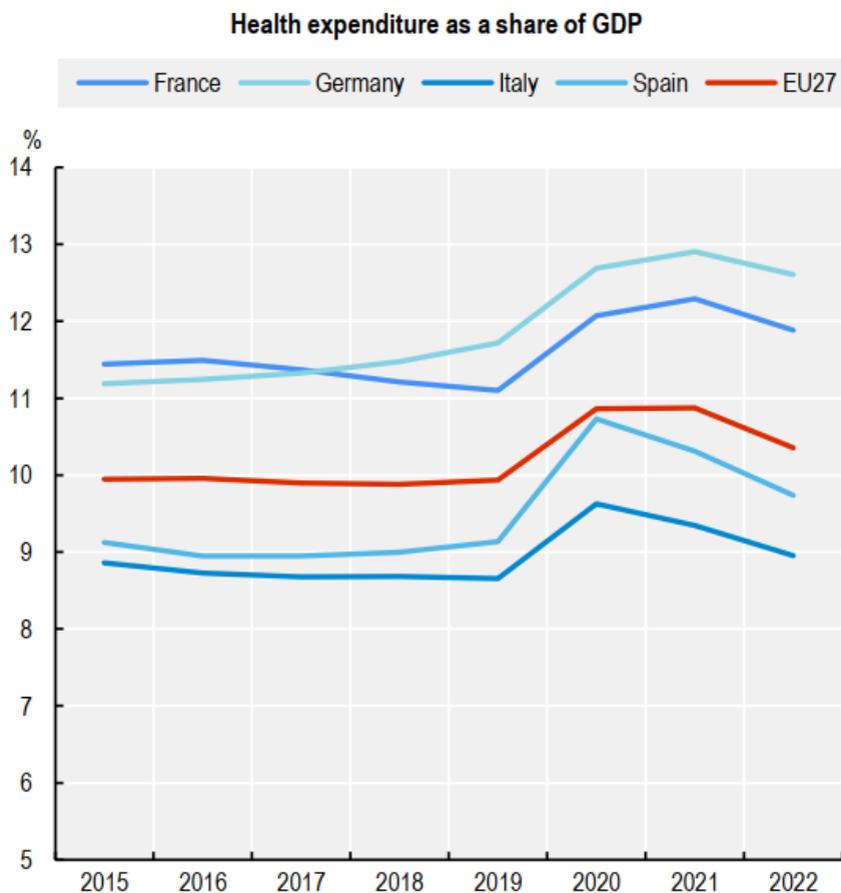
Questa impostazione, a posteriori, l'abbiamo trovata ben armonizzata con i "Rapporti etico-sociali" del dettato costituzionale che, se nell'Art. 32 ("La Repubblica tutela la salute come fondamentale diritto dell'individuo e interesse della collettività.") si dedica alla salute, nel successivo Art. 33 si occupa della ricerca e formazione ("L'arte e la scienza sono libere e libero ne è l'insegnamento."). Entrambi gli articoli sono una chiara indicazione per le attività perseguite dal nostro Consorzio.

Alcuni dati e alcune considerazioni possono essere utili a rendere concreto il dibattito.

Nel 2021 fu modificata la Costituzione inserendo il Titolo V che, fra l'altro, demandava alle Regioni la spesa relativa al Sistema Sanitario, mentre la decisione sulla ripartizione delle risorse è rimasta al Governo ed alla Ragioneria Generale. Questa situazione ha generato oggettivamente una confusione istituzionale, ma anche alibi per ciascuno dei due attori che ha accusato l'altro per gli scarsi finanziamenti o, viceversa, per gli sprechi e il malfunzionamento. Sarebbe opportuno intervenire.

Nella Tabella I, tratta dal recente "Health at a Glance, Europe 2024" pubblicato da OCSE nel novembre 2024, vediamo l'evoluzione della

spesa per la salute come percentuale sul PIL nel periodo 2015-2022. Si riscontra che l'Italia è l'ultima fra i 4 paesi più grandi dell'EU ed investe circa 1% in meno della media fra tutti i paesi EU-27.



*TAB I - Evoluzione della spesa per la salute come percentuale sul Pil nel periodo 2015-2022 per i quattro paesi più grandi di EU-27. Tratto da "Health at a Glance, Europe 2024"*

Queste limitate risorse destinate alla spesa per la salute si verificano in un paese, come l'Italia, che ha un significativo aumento della

percentuale delle persone anziane (65 anni o più), dunque proprio quelle che, in media, hanno maggior bisogno di cure mediche. Nella TAB II ho estrapolato, dal citato Rapporto OCSE, l'evoluzione della popolazione e della percentuale degli over 65, comparando quest'ultima con il dato medio europeo. Da una parte, dopo il picco del 2015, la popolazione italiana diminuisce soprattutto per la denatalità che affligge il nostro Paese; dall'altra aumenta significativamente la percentuale gli over 65, che è circa il 12% in più rispetto alla media EU-27.

	1960	1980	2000	2015	2023
Popolazione Italiana	50.026	56.388	56.924	60.295	58.997
% di italiani con 65 anni o più	9,3	13,1	18,1	21,9	24,0
% media degli over 65 in EU-27			16,0	19,1	21,3

TAB. II Elaborazione dell'autore su dati tratti "Health at a Glance, Europe 2024" – OCSE, 11/2024

L'altro fattore da tener conto è relativo al numero dei medici che dipende sia dall'immissione di nuovi laureati, sia dai tanti pensionamenti dei boomer. Nella Tab. III vi è un'elaborazione condotta su dati dell'Ordine dei Medici; in particolare abbiamo posto attenzione alla proiezione per il 2030; considerando, per la popolazione nazionale, il valore stimato da ISTAT. La previsione è impietosa: a causa del ridotto numero di laureati, del gran numero degli espatriati e dei pensionandi, il numero di medici operanti nel SSN sarà nel 2030 un terzo inferiore di quello nel 2024, a fronte di una popolazione di entità più o meno costante. Per altro solo nel 2030 si inizieranno a sentire i benefici del significativo aumento di posti

banditi per iscriversi a Medicina nel 2024, pari a circa 19.500, rispetto ai circa 14.500 di ciascuno dei tre anni precedenti.

	2024	Med/1000 Popol.	2030	Med/1000 Popol.
Popolazione Italiana	58.997.221		58.600.000	
Numero medici attivi	229.625	3,89		
Totale Medici	415.868	7,05		
Numero medici dipendenti pubblici	127.344	2,16	83.974	1,43
Numero medici operanti nel SSN	227.921	3,86	150.297	2,56

TAB. III Elaborazione dell'autore su dati tratti dall'Osservatorio 2024 del Centro Studi FNOMCeO<sup>1</sup>

Queste situazioni appaiono le più preoccupanti in prospettiva, soprattutto perché non sembra vi siano rapidi rimedi da poter mettere in campo. Le limitate risorse economiche rendono meno disponibile l'offerta di salute, i fattori demografici aumentano la richiesta di prestazioni e potrebbero intaccare gli importi delle pensioni (per la sensibile riduzione dei lavoratori attivi). La penuria di medici e

<sup>1</sup> Dati del Centro Studi FNOMCeO (Fed. Naz. Ordine Medici Chirurghi e Odontoiatri)

infermieri già influisce negativamente sulla performance del SSN e in prospettiva potrebbe provocare una esecuzione del servizio non pienamente soddisfacente.

La politica dovrà intervenire sui fattori abilitanti sopra illustrati, ma intanto può favorire alcuni ambiti che possono permettere sviluppi positivi del sistema e dell'offerta di salute a cittadine e cittadini. È un impegno urgente e inderogabile, poiché se il sistema dell'offerta di salute si deteriorasse ulteriormente si sgretolerebbe una porzione importante della coesione sociale che permette una vita dignitosa a chi ha emergenze sanitarie e alla sua famiglia.

Il SSN per la sua organizzazione dispone e può gestire una mole di dati sanitari che da una parte potrebbero essere ben utilizzati per rendere più semplice la vita dei pazienti, anche favorendo screening preventivi che allontanerebbero i rischi più gravi; dall'altra offrire (pur sempre rispettando i limiti della privacy) importanti input alla economia dei dati e della comunicazione che è diventata uno dei player strategici nello sviluppo economico dei paesi avanzati. Si pensi, per fare qualche esempio, alle imprese farmaceutiche e di nutraceutici, alle assicurazioni, alle imprese degli strumenti sanitari. Pertanto è importante completare l'opera di inserire nelle strutture sanitarie figure professionali che sappiano gestire efficacemente la digitalizzazione.

In merito, occorre incentivare i medici e gli infermieri ad utilizzare gli strumenti di elaborazione dati disponibili: la cartella paziente aggiornata, la profilatura dei casi medici, la telemedicina, l'intelligenza artificiale potrebbero consentire risparmi di tempo, precisa individuazione dell'obiettivo da raggiungere, maggiore performance nell'offerta di cura e, in prospettiva, minori costi per il SSN.

Inoltre viene riconosciuta all'Italia l'ottima preparazione dei medici, la testimonianza la riscontriamo nelle numerose eccellenze che operano in varie strutture sanitarie e anche nei risultati ottenuti nell'ambito

della ricerca. Infatti i ricercatori italiani sono<sup>2</sup> sesti al mondo per numero di pubblicazioni scientifiche in Medicina e terzi in Europa, dopo UK e Germania; in particolare negli studi cardiologici e cardiovascolari, dermatologici, epatologici e oncologici sono terzi al mondo (dopo USA e Cina) e primi in Europa. Questo notevole patrimonio umano dovrebbe essere incentivato sia dal punto di vista normativo, sia dal punto di vista economico, anche per evitare il fenomeno che ha visto migliaia di giovani medici (quasi 29 mila nel quinquennio 2019-2023<sup>3</sup>) emigrare all'estero, attratti da migliori opportunità lavorative.

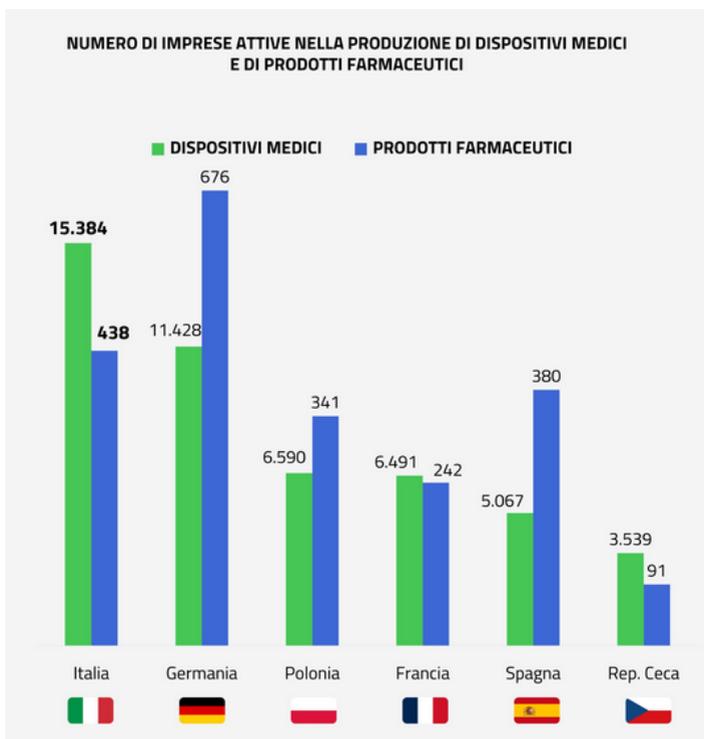
Infine le imprese nel settore delle Scienze della Vita sono una realtà importante per l'insieme del sistema produttivo nazionale. Come si vede nella Tab. IV l'Italia ha il maggior numero di imprese in Europa nel settore dei dispositivi biomedicali ed è seconda per il numero di imprese di prodotti farmaceutici. Inoltre nel comparto della produzione farmaceutica per conto terzi le imprese italiane guidano la lista delle nazioni europee con un valore manifatturiero di 3,1 miliardi pari al 23% del totale UE (Farindustria 2022), ma soprattutto nel periodo 2018-2022 l'export del settore farmaceutico italiano ha registrato la maggior crescita fra le economie europee (+ 87% rispetto al +55% della media UE). Infine molte imprese dei due settori hanno investito in R&S, con eccellenze in oncologia, neuroscienze e malattie infettive.

---

<sup>2</sup> Dati tratti da SCIMAGO 2024 -

<https://www.scimagojr.com/countryrank.php?area=2700&year=2024>

<sup>3</sup> Dati del Centro Studi FNOMCeO (Fed. Naz. Ordine Medici Chirurghi e Odontoiatri)



TAB. IV Numero imprese nelle Scienze della Vita; grafico tratto dal sito di Investinitaly<sup>4</sup>

A questo proposito sarebbe importante che il governo favorisca un maggior **collegamento delle università e degli enti di ricerca con il sistema produttivo, sia attraverso opportuni strumenti di interfaccia (come la Fraunhofer, che in Germania gestisce i programmi di ricerca applicata per favorire la competitività del sistema produttivo), sia supportando la ricerca cooperativa indirizzata a specifici risultati d'eccellenza.** Altrettanto importante sarebbe favorire il trasferimento tecnologico nelle Scienze della vita, rafforzando l'ecosistema di spin off che si è

<sup>4</sup> Sito: <https://www.investinitaly.gov.it/sectors/scienze-della-vita>

**creato in Italia in questi ultimi anni, cui il Consorzio INBB e il partner Cube Labs hanno significativamente contribuito.**

Partendo da questi spunti, possiamo avviare il dibattito della tavola rotonda. Abbiamo il piacere e l'onore di poter annoverare fra gli aderenti al nostro Consorzio numerosi colleghi di riconosciuta eccellenza, a partire dal Ministro Schillaci, e alcuni di loro li abbiamo invitati a questo tavolo: Masetti è un cardiocirurgo di fama mondiale e si sta occupando delle proposte di riorganizzazione del SSN; Moschetta è un esperto internazionale sulle interazioni fra metabolismo e salute e un testimonial di AIRC; Ventura è uno dei massimi esperti mondiali delle cellule staminali e fra gli iniziatori della Medicina Rigenerativa. Inoltre abbiamo invitato anche la Ministra Bernini che guida il ministero che supervisiona il nostro Consorzio e si occupa del mondo dell'alta formazione e della ricerca scientifica.

# UN NUOVO PARADIGMA PER RIORGANIZZARE IL SISTEMA SANITARIO NAZIONALE

*Massimo Massetti*

*Direttore CUORE Policlinico Gemelli, Roma*

La sanità è un argomento particolarmente sensibile per la popolazione italiana. È un bene sancito dalla Costituzione (Art. 32) e organizzato grazie al Sistema Sanitario Nazionale (SSN) istituito dalla “Riforma Sanitaria” della Legge 833/1978. Per decenni ai concittadini sono stati garantiti il diritto alla cura e la sua sostanziale gratuità a un livello riscontrabile in pochissimi altri paesi.

Ora quella italiana è una popolazione con grande presenza di anziani, ma anche con molte persone con redditi molto bassi. Negli ultimi lustri le risorse dedicate alla sanità sono rimaste stabili, se non diminuite e assistiamo da una parte ad un accesso più complicato alle cure a causa di lunghissime liste di attesa e, in tanti casi -che purtroppo ho potuto riscontrare *de visu* andando con il laboratorio cardio-diagnostico semovente della Fondazione “Dignitas Curae”<sup>5</sup>, nelle periferie di Roma- la rinuncia a curarsi per ragioni economiche.



*Papa Francesco per primo firma il Manifesto “Dignitas Curae” (Foto dell’autore)*

---

<sup>5</sup> <https://www.fondazioneidignitascurae.org/#manifesto>

È giunto il tempo di intervenire drasticamente sul SSN. Vi sono vari fattori su cui bisognerebbe operare, uno di questi è la riorganizzazione del Sistema. Ho avuto modo di dare il mio piccolo contributo in questo ambito essendo stato chiamato come componente del Tavolo tecnico per l'umanizzazione delle cure e il benessere organizzativo, istituito dal Ministro Schillaci presso il Ministero della Salute.

Anche con interviste su autorevoli media nazionali ho sottolineato, nell'autunno '24, che sarebbe stato necessario riorganizzare l'offerta sanitaria nazionale in modo che fosse focalizzata sul paziente e non sulle singole prestazioni sanitarie. A fine novembre, all'indomani del grande sciopero del settore, suggerii la necessità di condividere un approccio *bipartisan* per migliorare la situazione del SSN che necessitava, come indicato da un nutrito gruppo di medici, una rivoluzione organizzativa nell'interesse dei cittadini e di una maggiore sostenibilità del sistema.

Le proposte del Tavolo tecnico sono state recepite nella Finanziaria (Legge 207 del 30/12/2024) che prevede un incremento delle risorse che dovrebbero accelerare la transizione digitale del SSN e permettere di aumentare il numero dei medici e prevede altresì (Commi 360-364) l'avvio di "protocolli organizzativi sperimentali" negli enti che erogano servizi di cura del SSN e nelle strutture sanitarie private. Si tratta del primo passo per promuovere il nuovo paradigma (come recita nel comma 361) focalizzato sulla "centralità della persona umana, della umanizzazione della cura, della soddisfazione dei bisogni complessivi del malato".

## IL METABOLISMO: DAL DNA ALL'ESPOSOMA

**Antonio Moschetta**

*Professore Ordinario di Medicina Interna, Università degli Studi "Aldo Moro" di Bari;*

*Direttore UOC Medicina Interna "C. Frugoni", Az. Ospedaliero-universitaria Consorziale Policlinico di Bari*

Il metabolismo è l'insieme delle reazioni biochimiche che permettono la trasformazione dell'energia e delle molecole necessarie alla crescita, alla riparazione e al funzionamento cellulare. Il metabolismo non è solo un insieme di reazioni chimiche automatiche, ma un processo dinamico, influenzato da fattori genetici ed epigenetici, modulato continuamente dall'ambiente. L'insieme delle esposizioni ambientali (chimiche, fisiche, sociali) che un individuo subisce nel corso della vita come dieta, fumo, alcol, attività fisica, inquinanti ambientali, stress psico-sociale e fattori socioeconomici rappresentano quello che viene definito "esposoma".

Attraverso il metabolismo i nutrienti vengono scomposti (catabolismo) e i loro componenti utilizzati per costruire tutte le strutture cellulari (anabolismo). Il cibo è in grado di dialogare con il nostro corpo attraverso il DNA, cioè il nostro codice genetico. Negli ultimi decenni, il legame tra cibo e geni ha influenzato molti aspetti della salute e della società moderna con l'obiettivo di identificare degli interventi nutrizionali che consentano al medico di creare delle strategie personalizzate allo scopo di prevenire la comparsa delle malattie e mantenere uno stato di salute ottimale. È dunque di fondamentale importanza il tipo di nutrienti che arrivano alla cellula attraverso la dieta, affinché essa possa svolgere in maniera sana le sue funzioni. La domanda più urgente è come modulare la capacità dei nutrienti di modificare il programma trascrizionale delle cellule considerando che esiste uno stretto legame tra ambiente, espressione genica e metabolismo.

Questi fattori possono alterare il metabolismo direttamente (es. obesità indotta da dieta ipercalorica) e influenzare l'epigenoma e quindi l'espressione dei geni legati al metabolismo.

Quindi, un individuo con predisposizione genetica al diabete (es. variante nel gene specifico) può rimanere sano se l'ambiente è favorevole (stile di vita, dieta sana, esercizio); al contrario, lo stesso genotipo in un ambiente obesogeno può sviluppare la malattia.

Comprendere il percorso dal DNA all'esposoma significa abbracciare un approccio integrato e sistemico alla salute, essenziale per la medicina di precisione, la prevenzione e il trattamento delle malattie metaboliche e croniche.

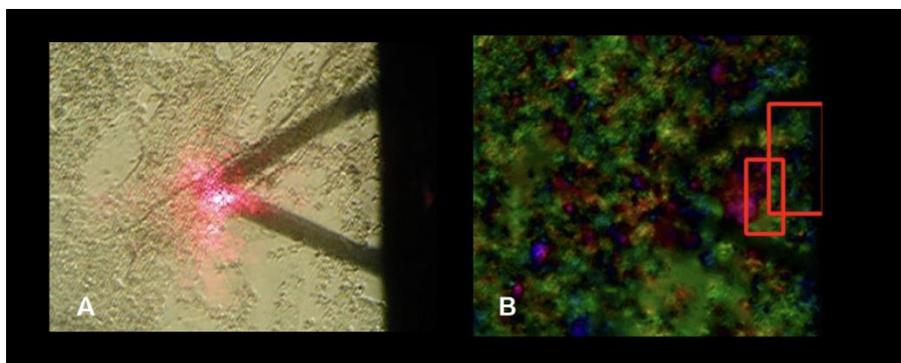
# **LE CELLULE STAMINALI E LA MEDICINA RIGENERATIVA**

***Carlo Ventura***

*Direttore del Laboratorio Nazionale INBB di Bologna e Direttore di ELDOR Lab*

I nostri studi si concentrano sulla biologia cellulare e sulla medicina rigenerativa. Abbiamo sviluppato dispositivi e metodi innovativi per trasformare il grasso umano in derivati tissutali attraverso tecniche di micro-frammentazione e strategie avanzate di lavaggio. Questo ci ha permesso di introdurre un sistema per il rilascio del "Unified Fluid Adipose Tissue (UFAT)", il quale mantiene le caratteristiche di una nicchia vasculo-stromale intatta, include periciti come precursori delle cellule staminali mesenchimali e contiene un'alta concentrazione di esosomi e cellule MUSE (Multilineage Stress Enduring stem cells), capaci di mantenere caratteristiche delle cellule staminali pluripotenti umane sia in vitro che in vivo.

Abbiamo anche sviluppato un sistema convalidato per la crioconservazione e il rilascio efficiente di derivati del tessuto adiposo umano, supportando le biobanche nel soddisfare le esigenze di pazienti che richiedono trapianti multipli senza dover subire ripetute liposuzioni, in particolare coloro con comorbidità gravi come insufficienza cardiaca, complicanze diabetiche e patologie vascolari. La nostra ricerca si estende allo sviluppo di sistemi di imaging iperspettrale, per valutare in tempo reale la vitalità cellulare e l'integrità dei tessuti prima del trapianto o della crioconservazione.



*Foto della Registrazione della cardiogenesi in cellule staminali pluripotenti indotte (iPS) mediante microscopia a forza atomica (AFM) (A) e Hyperspectral Imaging (B)*

I nostri studi stanno dimostrando che le cellule somatiche e staminali contengono circuiti bioelettronici capaci di generare energie fisiche, tra cui campi elettromagnetici, vibrazioni nanomeccaniche e luce. Questi modelli oscillatori possiedono caratteristiche di connettività e sincronizzazione, facilitando il riconoscimento biomolecolare indipendentemente dal contatto fisico tra molecole di segnalazione. Recentemente, abbiamo dimostrato che le cellule staminali non solo generano ma anche percepiscono forze fisiche e possono essere riprogrammate da esse per divenire cellule rigenerative più efficaci, utili per trattare diverse malattie.

Queste osservazioni biofisiche ci hanno condotto verso un ulteriore sviluppo entusiasmante: un Codice Morfogenetico, un complesso software della Vita in grado di orchestrare strutture e funzioni, dall'assemblaggio molecolare alla creazione di anatomie macroscopiche. Stiamo esplorando una medicina rigenerativa che sfrutti la capacità di diffusione di queste energie per riprogrammare in loco le nostre cellule staminali residenti nei tessuti, aprendo la strada a terapie rigenerative senza necessità di trapianti, puntando sull'ottimizzazione del nostro potenziale di autoguarigione.

In questo contesto all'avanguardia, stiamo utilizzando tecniche di imaging iperspettrale per individuare profili rigenerativi specifici per ciascun paziente, indotti da trattamenti con dispositivi indossabili in grado di emettere radiazioni luminose con lunghezze d'onda e ampiezze di modulazione precise. Stiamo avanzando verso una strategia di medicina rigenerativa di precisione, capace di realizzare terapie personalizzate ed efficaci.



**SESSIONE**  
***“Agrifood: strategie innovative e interdisciplinari”***

# **NUOVE FRONTIERE TECNOLOGICHE GARANTISCONO ROBUSTEZZA, SENSIBILITÀ E STABILITÀ PER L'ANALISI DEI PFAS NEGLI ALIMENTI**

*Paolo Dossetto*

*AB-SCIEX srl - p.le Francesco Baracca 1- 20123 Milano*

Analizzare i PFAS negli alimenti è difficile a causa della complessità delle matrici. La robustezza dello strumento è quindi essenziale per mantenere elevate prestazioni con meno interruzioni e pulizie strumentali. Il sistema SCIEX 7500+ offre la stessa sensibilità del 7500, ma è più resistente grazie alla tecnologia Mass Guard<sup>1</sup>, che include elettrodi “T Bar” per ridurre le contaminazioni e mantenere pulito il fascio ionico. Rispetto al 7500, il modello 7500+ mostra meno depositi sulla lente IQ1 e offre un accesso facilitato per la pulizia dell'area anteriore dell'interfaccia strumentale. L'analisi dei residui negli alimenti rappresenta una sfida a causa dei co-estratti interferenti, che possono compromettere le prestazioni dello strumento e causare fermi operativi. Per testare al massimo la resistenza del sistema, è stato adottato un protocollo di preparazione del campione particolarmente rigoroso, omettendo anche la valvola di deviazione Scarico/sorgente. Questa presentazione evidenzia un miglioramento superiore al doppio nella robustezza del sistema SCIEX 7500+, per l'analisi degli estratti alimentari contenenti PFAS. Al termine dello studio, che ha previsto oltre 6.400 iniezioni di matrici alimentari, la maggior parte dei composti PFAS (10 su 13) ha mantenuto oltre il 70% della sensibilità iniziale, dimostrando un'eccellente stabilità analitica nel tempo. Grazie alla tecnologia Mass Guard<sup>1</sup>, il 7500+ garantisce maggiore resistenza operativa e mantiene elevata sensibilità anche nelle analisi più sfidanti.

# **INNOVATING FOOD SAFETY ASSESSMENT: HIGH-THROUGHPUT SENSOR PLATFORMS FOR MULTI-ALLERGEN DETECTION**

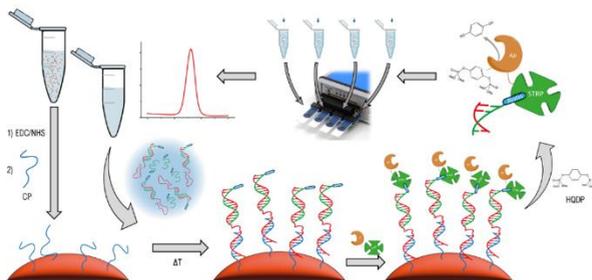
*Marco Giannetto*

*Dipartimento di Scienze Chimiche, della Vita e della Sostenibilità Ambientale, Università di Parma*

In response to the growing need for reliable, field-deployable methodologies for the detection of undeclared allergenic ingredients, hidden allergens from cross-contamination, or emerging food allergens [1], our research group is currently working on a challenging research project focused on the development of portable sensing platforms for multi-allergen detection in raw materials for food chain production.

The sensing approach is based on electrochemical enzyme-labeled magneto-genoassays carried out on a parallel multichannel platform. Although antibody-based assays, such as the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), are widely utilized, concerns regarding the variability of data generated across different kits targeting the same allergen persist. This variability has been shown to result in considerable differences in the results obtained for the same analyte, as well as the potential for antibody-cross-reactivity with non-target antigens from similar species [2]. Conversely, DNA-based assays, such as the Polymerase Chain Reaction (PCR), offer a high degree of molecular specificity. However, they are characterized by complex sample preparation processes and the necessity of sophisticated laboratory equipment, which hinders their wide application in the portable, on-site detection of food allergens [2]. Conversely, liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) has emerged as a confirmatory strategy for the unambiguous identification and accurate quantification of allergens over the last 10-20 years [1].

Nevertheless, it does not fulfil the purpose of rapid screening, which is offered by portable and battery-operated electrochemical sensing devices. These devices provide an optimal compromise, maintaining the specificity afforded by DNA sequence detection while enabling rapid testing using inexpensive and portable instrumentation. Briefly, the electrochemical magneto-genoassay protocol involves the use of ferromagnetic microbeads (MBs) modified with carboxyl groups, which are activated with coupling reagents for the covalent binding of the DNA capture probe (CP). In order to perform a sandwich-type assay strategy, the DNA extracted from the allergen is first reacted with a biotin-labeled signalling probe (SP) targeting a DNA sequence portion that differs from the sequence recognized by CP. This process forms a first hybrid, which is subsequently suspended with the CP-functionalized MBs for sandwich formation [3]. A final incubation with a streptavidin-alkaline phosphatase conjugate results in the generation of an electrochemical signal, measured by differential pulse voltammetry (see Figure 1).



*Figure 1. Experimental protocol for the multi-allergen enzyme-labeled magneto-genoassay*

The experimental parameters most impacting on the analytical performance, such as MBs size (2.8 and 1  $\mu\text{m}$ ), hybridization time and temperature, were optimized by means of a full factorial experimental design. Following optimization, the magneto-genoassay was successfully applied to the detection of genomic DNA extracted from

wheat flour samples contaminated by soy, an allergenic ingredient, at different concentration levels. A peculiar aspect in the detection of allergens was the treatment of their genomic DNA extract, which was addressed both by ultrasonic treatment [4] and by digestion using different enzymes. The performance of a generic DNase was compared with those obtained using endonucleases such as *BamHI* and *HindIII* as restriction enzymes with specific cleavage sites of the allergen target sequence. The tests carried on genomic DNA extracted from wheat flour containing 0.1 to 5% soy highlighted the effectiveness of enzymatic digestion with respect to conventional ultrasonic treatment, thus improving the efficiency and reproducibility of the procedure.

Finally, another perspective under study is the translation of the same genoassay recognition mechanism to capacitive, label-free transduction systems, always with a view to implementing multichannel systems for the rapid, reliable and simultaneous detection of multiple allergens.

The developed electrochemical magneto-genoassay will be extended to detect multiple allergens using magnetic beads functionalised with probes targeting specific DNA sequences of different allergenic species. The current study is expected to provide a rapid and portable platform capable of detecting DNA sequences corresponding to multiple allergen species at trace levels in foods, providing a valuable analytical tool in addressing the issue of hidden allergen determination.

**Acknowledgements:** Project funded under the National Recovery and Resilience Plan (NRRP), Mission 4 Component 2 Investment 1.3 - Call for tender No. 341 of 15/03/2022 of Italian Ministry of University and Research funded by the European Union – NextGenerationEU Award Number: Project code PE0000003, Project title “Research and innovation network on food and nutrition Sustainability, Safety and Security – Working ON Foods” (ONFOODS). Wheat flour samples were kindly provided by Barilla G. & R. fratelli S.p.A.

### **References**

1. M. Mattarozzi, M. Careri, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2019, 411, 4465-4480. DOI: 10.1007/s00216-019-01642-3.
2. D. Zhu, S. Fu, X. Zhang, Q. Zhao, X. Yang, C. Man, Y. Jiang, L. Guo, X. Zhang, *Trends Food Sci. Tech.*, 2024, 148, 104485. DOI: 10.1016/j.tifs.2024.104485.
3. S. Fortunati, M. Giannetto, A. Rozzi, R. Corradini, M. Careri, *Anal. Chim. Acta*, 2021, 1153, 338297, DOI:10.1016/j.aca.2021.338297
4. S. Fortunati, C. Giliberti, M. Giannetto, A. Bertucci, S. Capodaglio, E. Ricciardi, P. Giacomini, V. Bianchi, A. Boni, I. De Munari, R. Corradini, M. Careri, *Biosens. Bioelectron.*: X, 2023, 15, 100404. DOI: 10.1016/j.biosx.2023.100404.

# **BIOECONOMIA CIRCOLARE NELL'ORTOFRUTTA: INNOVAZIONI DEL CONSORZIO MELINDA**

***Luca Lovatti***

*Consorzio Melinda sca*

La bioeconomia è un settore fondamentale per affrontare le sfide ambientali e sociali legate alla transizione ecologica, inclusa la produzione e il consumo alimentare. Il Consorzio Melinda è socio del Cluster Spring, il cluster italiano della bioeconomia circolare, e rappresenta le bioindustrie italiane e si focalizza sulla creazione di un contesto e di un tessuto industriale innovativo, competitivo, efficiente e senza sprechi. Un aspetto centrale di questa visione è l'uso di scarti, residui e sottoprodotti dell'industria alimentare per creare nuove opportunità di produzione.

Spring sottolinea l'importanza di un approccio circolare nella bioeconomia, dove i sottoprodotti dell'industria alimentare diventano una risorsa per ingredienti innovativi e/o nuovi prodotti studiati e sviluppati per arricchire in fibre, proteine e altre molecole bioattive ad alto valore salutistico alimenti rivolti a consumatori sempre più attenti al rapporto nutrizione/salute. Questo approccio si basa sull'innovazione tecnologica e sul sostegno continuo alla ricerca e allo scale-up delle tecnologie esistenti.

Inoltre, la centralità della bioeconomia nei sistemi alimentari riflette la crescente consapevolezza della società riguardo alla necessità di soddisfare l'aumento della domanda alimentare attraverso metodi agricoli più sostenibili. I consumatori stanno inoltre adottando stili di vita più sostenibili, scegliendo prodotti *bio-based* e supportando l'uso della biomassa, inclusi residui agricoli e scarti alimentari, per ridurre l'inquinamento e sviluppare alternative sostenibili.

Il Consorzio Melinda Sca, una organizzazione dei produttori di 16 Cooperative della Val di Non e Val di Sole, in Trentino, con le sue

3.800 aziende agricole e 6.700 ettari di frutteti coltivati principalmente a mele, ma non solo (ciliegie e piccoli frutti) attraverso gli obiettivi di sostenibilità si è posta già da tempo gli obiettivi di circolarità. Un esempio noto a molti è il recupero e riutilizzo dei vuoti delle cave minerarie, dove si estrae la dolomia, per la conservazione delle mele nelle celle ipogee (circa un 10% della quantità prodotta) con un significativo risparmio energetico. Inoltre, il Consorzio sta investendo risorse nell'innovazione di prodotti bioattivi derivati dalle mele non destinate al consumo fresco e dei sottoprodotti dell'industria di trasformazione (attraverso la propria controllata MelindaLab).

In particolare, le ultime innovazioni riguardano l'estrazione di vescicole extracellulari dal frutto di mela con diverse tecnologie 'green', con due brevetti industriali depositati, che riguardano applicazioni per la cosmetica e integratori sia per utilizzo umano che animale, nonché composti come carboidrati, pectine e polifenoli per diversi utilizzi (packaging, trattamenti post-raccolta, pet food e impieghi zootecnici). La fine ultima di tutti i sottoprodotti post-estrazione è la produzione di biogas e fertilizzanti organici di qualità e di compost, utili per gli obiettivi di mantenimento della sostanza organica dei frutteti dei nostri agricoltori in un concetto di rigenerazione e di miglioramento della biodiversità dei suoli.

# I NOVEL FOODS: VALUTAZIONE DEL RISCHIO

***Rosangela Marchelli***

*(già) membro del Panel NDA (Nutrition, Novel Foods and Food Allergy) e dei Working Groups on Novel Foods e Food Allergy dell'European Food Safety Authority (EFSA)*

Si definiscono “Novel Foods” gli alimenti e gli ingredienti che non sono stati consumati nell’Unione Europea prima del 15 maggio 1997 e sono regolati dal Reg. (EU) 2015/2283. Secondo questo Regolamento, un NF ricade in almeno una delle seguenti categorie: alimento con una struttura molecolare nuova o intenzionalmente modificata, alimento da culture cellulari o di tessuti derivati da animali, piante, microorganismi, funghi o alghe, alimento da materiali di origine minerale, alimento ottenuto mediante un nuovo processo di produzione, alimento costituito da nanomateriali ingegnerizzati, vitamine, minerali o altre sostanze provenienti da un processo di produzione all’interno dell’Unione Europea non usato prima del 15 maggio 1997 e un alimento usato prima del 15 maggio 1997 esclusivamente come, o in, un integratore.

Questa conferenza riguarda innanzitutto i metodi utilizzati per eseguire la valutazione del rischio dei Novel Foods. Essa implica l’identificazione del NF, la descrizione dettagliata del processo di produzione, la caratterizzazione del NF con metodi chimico-fisici e biologici, la stabilità e le specifiche che saranno riportate nella Union List of Novel Foods approvati [1]. Particolare attenzione è data, oltre alla verifica dei componenti che costituiscono l’alimento e agli aspetti microbiologici, all’eventuale presenza di nano e piccole particelle, che possono avere un impatto sulla solubilità, biodisponibilità e tossicità del prodotto. Sono poi accuratamente esaminati il valore nutrizionale, l’assorbimento, la distribuzione, il metabolismo e l’escrezione (ADME) dell’alimento, e infine la tossicologia e la genotossicità, nonché la potenziale allergenicità del NF. In particolare, per quanto

riguarda la tossicologia, sono considerati importanti elementi gli studi *in silico*, *in vitro*, *in vivo* e studi umani già riportati in letteratura. Qualora questi non siano sufficienti, si richiedono nuovi studi appropriati secondo un tier approach (a diversi livelli di approfondimento). Linee guida riportanti i requisiti essenziali per la presentazione delle domande di autorizzazione dei NF sono state pubblicate di recente [2].

Infine, saranno riportati esempi dei NF più recenti, già approvati o in via di discussione, che stanno ricevendo molta attenzione dai media e dall'opinione pubblica: insetti, cannabinoidi, in particolare il CBD (cannabidiolo), ottenuto per sintesi o per estrazione da parti differenti della pianta *Cannabis sativa* e la carne coltivata.

#### **Referenze**

[1] Commission Implementing regulation (EU) 2017/2470 of 20 December 2017 establishing the Union List of novel foods in accordance with Regulation (EU) 2015/2283 of the European Parliament and of the Council on novel foods.

[2] Guidance on the scientific requirements for an application for authorisation of a novel food in the context of regulation (EU) 2015/2283. EFSA Journal, 2024.

## MICRO NIR PER ANALISI DI ALIMENTI: IL VANTAGGIO DELLE ANALISI IN CAMPO

*Stefano Materazzi*

*Dip. Chimica – Università “Sapienza” di Roma*

I moderni approcci analitici, basati principalmente su tecniche cromatografiche, consentono di caratterizzare la composizione delle matrici alimentari con elevata sensibilità e specificità.

È tuttavia noto che la presenza e la quantità di singoli componenti non sono sufficienti a spiegare e giustificare l'assorbimento dei nutrienti o il reale valore nutrizionale, né a caratterizzare una specifica origine o la peculiarità di un prodotto.

Sempre più spesso si fa riferimento ai metodi analitici che non prevedono pretrattamento del campione in esame, come la spettroscopia, in quanto consentono di garantire il rispetto dell'autenticità e di definire con un' "profilo caratteristico" la diversa provenienza, in base alle caratteristiche specifiche derivanti da specifiche influenze geografiche, agricole e genetiche.

Due sono stati i fattori che hanno permesso il salto generazionale:

- un contributo fondamentale è stato dato dalla tecnologia che ha permesso di avere a disposizione strumentazione spettroscopica portatile, facile da usare e miniaturizzata, con una maggiore sensibilità grazie all'innovazione nei sistemi ottici sviluppati, senza bisogno di solventi: una vera chimica analitica green;

- i modelli di predizione chemiometrica, a partire da set di dati spettroscopici registrati direttamente sul campo, sono in grado di fornire la risposta specifica richiesta mediante analisi “targeted”, attraverso la quantificazione di analiti specifici, oppure mediante analisi “untargeted”, che si traduce in profili estremamente affidabili e caratteristici. Questi profili “integri” forniscono informazioni complete ed originali, spesso comparative, che non possono essere

ottenute con tecniche cromatografiche che necessitano di pretrattamento.



La possibilità di effettuare analisi mediante spettroscopia portatile ha permesso di cambiare gli approcci analitici, spesso evitando il campionamento ed effettuando le caratterizzazioni direttamente in campo: si sta affermando il concetto “lab to sample”.

In questa ottica, oggi vengono messi a punto modelli chemiometrici che forniscono risposte specifiche, analiticamente sensibili, ma soprattutto specificamente finalizzate al controllo di coltivazione, di trasformazione o di vendita, a tutela della filiera.

**BIBLIOGRAFIA:**

*Portable NIR spectroscopy: the route to green analytical chemistry*  
Gullifa, G., Barone, L., Papa, E., Giuffrida, A., Materazzi, S., Risoluti, R. *Frontiers in Chemistry*, 2023, 11, 1214825

# VALORIZZAZIONE DEI SOTTOPRODOTTI AGRICOLI: UTILIZZO DI ESTRATTI GREEN PER LA SALUTE DELLA MUCOSA ORALE

***Alessia Silla<sup>1,2</sup>, Angela Punzo<sup>1,3</sup>, Greta Gozzi<sup>4</sup>, Francesca Bonvicini<sup>5</sup>, Ismaela Foltran<sup>2</sup>, Marco Malaguti<sup>6</sup>, Silvana Hrelia<sup>6</sup>, Cristiana Caliceti<sup>1,3</sup>.***

<sup>1</sup>*Dipartimento di Scienze Biomediche e Neuromotorie, Alma Mater Studiorum, Università di Bologna.*

<sup>2</sup>*Incos Cosmeceutica Industriale, Funo di Argelato, Bologna.*

<sup>3</sup>*Istituto Nazionale Biostrutture e Biosistemi (INBB), Roma.*

<sup>4</sup>*UFR Sciences du Vivant, Université Paris Cité, Parigi.*

<sup>5</sup>*Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie, Alma Mater Studiorum, Università di Bologna, Bologna.*

<sup>6</sup>*Dipartimento di Scienze per la Qualità della Vita, Alma Mater Studiorum, Università di Bologna, Rimini.*

L'industria agroalimentare genera ingenti quantità di scarti e sottoprodotti, spesso ricchi di composti bioattivi con potenziali benefici per la salute umana (1). La valorizzazione di tali scarti rappresenta una strategia sostenibile per l'estrazione di ingredienti funzionali destinati a prodotti nutraceutici e cosmeceutici. Il presente studio ha indagato le proprietà biologiche di estratti ottenuti da bucce di pomodoro (P) e scorze di melograno (M), al fine di valutarne l'applicabilità in formulazioni per la salute del cavo orale.

In primo luogo, è stato investigato il profilo fitochimico degli estratti attraverso analisi HPLC-UV.

L'estratto P ha mostrato un contenuto di licopene pari a  $25.0 \pm 5.0$  mg/g di estratto secco, mentre l'estratto M ha evidenziato una concentrazione di punicalagina pari a  $1545.45 \pm 12.23$  µg/mL.

Sono state quindi valutate le attività biologiche degli estratti su cellule epiteliali gengivali umane primarie (Human Primary Epithelial Gingival Cells, HGECs), utilizzate come modello *in vitro* della

mucosa orale. In una fase preliminare, è stata valutata la vitalità cellulare e la citotossicità degli estratti P, M e della loro combinazione (P+M). I risultati hanno mostrato che trattamenti di 4 ore, volti a simulare un'esposizione compatibile con l'uso di un collutorio, a concentrazioni comprese tra 0.1-3% v/v non compromettono la vitalità cellulare né inducono citotossicità.

È stata quindi indagata l'attività antiossidante degli estratti mediante un saggio chemiluminescente in grado di rilevare selettivamente la produzione intracellulare di acqua ossigenata (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (2) in HGECs stimulate con lipopolisaccaride (LPS), per simulare disbiosi orale. Il trattamento con gli estratti (0.1-3% v/v), singolarmente o in combinazione, ha determinato una significativa riduzione dose-dipendente dei livelli di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, con IC<sub>50</sub> pari a 0.36%, 0.34% e 0.23% v/v rispettivamente per M, P e M+P. Inoltre, l'analisi mediante RT-PCR ha evidenziato un aumento significativo nell'espressione della Superossido Dismutasi 1 (SOD-1) ( $p < 0.01$ ) a seguito del trattamento con M, P e M+P, indicando un potenziamento delle difese antiossidanti cellulari.

Parallelamente, è stata valutata l'attività antinfiammatoria tramite RT-PCR. Il pretrattamento con gli estratti ha causato una significativa riduzione dell'espressione di TNF- $\alpha$  e MCP-1, due noti marker infiammatori, in HGECs stimulate con LPS ( $p < 0.001$ ), con un'efficacia paragonabile a quella della curcumina. Inoltre, l'attività antibatterica, valutata mediante il metodo delle microdiluzioni, ha evidenziato un'inibizione significativa della crescita di *Streptococcus mutans* (MIC = 10%) e *Streptococcus sanguinis* (MIC = 5%) per entrambi gli estratti, confermandone il potenziale nel supportare la salute orale.

Facendo seguito a questi risultati promettenti, gli estratti sono stati incorporati nella formulazione di un collutorio (C), con una concentrazione finale degli estratti pari al 3% v/v. Tale formulazione ha mostrato una marcata attività antiossidante (IC<sub>50</sub> = 0.25% v/v) e un

incremento significativo dell'espressione di SOD-1 ( $p < 0.001$ ) in HGECs stimulate con LPS. Inoltre, C ha evidenziato un'efficace attività antibatterica nei confronti di *S. mutans* ( $\emptyset = 21 \pm 1$  mm) e *S. sanguinis* ( $\emptyset = 18 \pm 1$  mm), valutata tramite test di diffusione su agar. Esperimenti supplementari hanno evidenziato che, sebbene le attività biologiche osservate per M, P e C risultino lievemente attenuate in presenza di saliva artificiale, la combinazione degli estratti mantiene un'efficacia significativa, confermandone il potenziale per applicazioni cosmetiche anche in condizioni fisiologicamente più rappresentative.

In conclusione, gli estratti da scarti di pomodoro e melograno sono risultati essere ingredienti efficaci per applicazioni in ambito orale. L'elevata disponibilità delle materie prime, unita all'attività biologica dimostrata, supporta la loro integrazione nello sviluppo industriale di prodotti per l'igiene orale, in linea con i principi della sostenibilità e della prevenzione primaria.

Questo lavoro è stato finanziato da “European Union—Next Generation EU, Mission 4 Component 1, CUP 2022LW54KC - “Call MUR PRIN2022” to CC, SH and MM”

**Referenze:**

- 1) Ben-Othman, S., Jöudu, I., & Bhat, R. (2020). Bioactives from agri-food wastes: Present insights and future challenges. *Molecules*, 25(3), 510.
- 2) Calabria, D., Guardigli, M., Mirasoli, M., Punzo, A., Porru, E., Zangheri, M., ... & Roda, A. (2020). Selective chemiluminescent TURN-ON quantitative bioassay and imaging of intracellular hydrogen peroxide in human living cells. *Analytical Biochemistry*, 600, 113760.



**SESSIONE**  
***“Interferenti Endocrini: strategie innovative per il  
benessere dell’uomo e degli ecosistemi”***

# **EFFECT OF ENDOCRINE DISRUPTORS ON NEURODEVELOPMENT: EVIDENCE FROM HUMAN iPSC-DERIVED CEREBRAL ORGANOIDS**

***Andrea Di Credico***

*Department of Medicine and Aging Sciences, “G. d’Annunzio”  
University of Chieti-Pescara*

Human brain development is a highly intricate process governed by both genetic and environmental influences. Disruptions during neurodevelopment can have long-term effects on mental health and may increase susceptibility to neurodegenerative disorders<sup>1</sup>. Endocrine-disrupting chemicals (EDCs), including bisphenol-S (BPS) and perfluoro-octane sulfonate (PFOS), are widely found in everyday consumer products such as food and beverage containers, thermal paper receipts, and personal care items. Consequently, widespread and continuous exposure of the general population to these substances has sparked growing concern regarding their potential long-term consequences on human health, especially in vulnerable populations such as pregnant women and developing children. EDCs are particularly worrisome due to their ability to interfere with hormonal signaling pathways, including those essential for brain development. While it is well established that compounds such as BPS and PFOS can cross the placental barrier and accumulate in fetal tissues, their precise impact on the development and function of the human brain remains incompletely understood. This research work investigates the neurodevelopmental toxicity of chronic exposure to BPS and PFOS using human brain organoids, three-dimensional cell cultures that recapitulate fundamental aspects of brain architecture and function. The results revealed that prolonged exposure to environmentally relevant concentrations of BPS and PFOS, both individually and in combination, impairs organoid growth and disrupts the formation of the cortical plate, synaptogenesis, and choroid plexus development. Additionally, transcription factors essential for cortical layer formation and glutamatergic neuron

differentiation are adversely affected. These structural and molecular changes are accompanied by alterations in electron transport chain complexes.

In summary, the data suggest that prenatal exposure to BPS and PFOS at environmental levels can interfere with human neurodevelopment, potentially compromising brain integrity and increasing the risk of neurobehavioral disorders

### **References**

1 Zhou, Y., Song, H. & Ming, G. *Genetics of human brain development. Nat Rev Genet* 25, 26–45 (2024). <https://doi.org/10.1038/s41576-023-00626-5>

2 Yilmaz B, Terekeci H, Sandal S, Kelestimur F. *Endocrine disrupting chemicals: exposure, effects on human health, mechanism of action, models for testing and strategies for prevention. Rev Endocr Metab Disord.* 2020 Mar;21(1):127-147. doi: 10.1007/s11154-019-09521-z. PMID: 3179280

# MAMMIFERI SELVATICI TERRESTRI COME STRUMENTI DI BIOMONITORAGGIO PER GLI INTERFERENTI ENDOCRINI

*Susanna Draghi*

*Università degli Studi di Milano – Dipartimento di Medicina Veterinaria e Scienze Animali*

L'inquinamento ambientale rappresenta una delle sfide più urgenti del nostro tempo, influenzando profondamente la salute umana, animale e degli ecosistemi nel loro complesso, in un'ottica "One Health". Tra i contaminanti emergenti più rilevanti figurano gli interferenti endocrini, sostanze chimiche capaci di alterare il sistema ormonale anche a concentrazioni molto basse. Questi composti, provenienti da attività industriali, agricole o antropiche, possono accumularsi nei tessuti degli organismi e propagarsi attraverso la catena alimentare. Particolarmente preoccupanti sono i PFAS (sostanze per- e polifluoroalchiliche), una vasta famiglia di interferenti endocrini persistenti e bioaccumulabili, utilizzate in una molteplicità di prodotti per la loro stabilità chimica e termica. La loro resistenza alla degradazione naturale comporta un'ampia diffusione nell'ambiente e l'esposizione cronica degli organismi viventi. Per monitorare efficacemente la presenza e l'impatto degli interferenti endocrini nell'ambiente, l'utilizzo di mammiferi selvatici autoctoni rappresenta un approccio promettente e complementare rispetto alle tradizionali analisi ambientali. Tali animali, vivendo a stretto contatto con l'ecosistema locale, riflettono in modo diretto l'esposizione reale a questi contaminanti. Tra le specie maggiormente impiegate a tale scopo figura il capriolo (*Capreolus capreolus*), grazie alla sua ampia diffusione, alla dieta selettiva e al limitato home range. Lo studio "Comparative analysis of PFASs concentrations in fur, muscle, and liver of wild roe deer as biomonitoring matrices" ha analizzato la

presenza di 12 PFAS nei tessuti di 40 caprioli (20 maschi e 20 femmine, di età compresa tra 12 e 24 mesi) prelevati in un'area dell'Italia settentrionale. L'obiettivo principale era valutare la validità del pelo come matrice di biomonitoraggio non invasiva, confrontandola con il muscolo e il fegato. L'analisi ha mostrato differenze significative nella concentrazione dei PFAS tra le tre matrici. In particolare, PFNA e PFOS hanno evidenziato livelli significativamente più elevati nel fegato rispetto a muscolo e pelo (es. PFNA:  $0.414 \pm 0.322$  µg/kg nel fegato vs  $0.080 \pm 0.103$  µg/kg nel pelo). Il pelo ha mostrato, in generale, una variabilità maggiore e una frequenza di rilevamento inferiore per molti composti, come PFBA, PFPeA e PFHxS, che risultavano spesso non rilevati in questa matrice. Tuttavia, PFHxA è stato rilevato nel pelo con maggiore frequenza rispetto ad altri tessuti. Tre composti (PFOA, PFNA e PFOS) hanno mostrato frequenze di rilevamento simili tra tutte le matrici, suggerendo un potenziale valore del pelo come indicatore di esposizione per alcuni specifici PFAS. I vantaggi del pelo risiedono principalmente nella possibilità di un campionamento non invasivo, nella facilità di conservazione e nella capacità di fornire informazioni su esposizioni croniche. Tuttavia, le incertezze legate al metabolismo dei PFAS e alla loro incorporazione nel pelo richiedono ulteriori studi. Alcune delle criticità riscontrate riguardano l'assenza del bulbo pilifero (che può alterare la rappresentatività del campione), l'effetto matrice e la variabilità inter-individuale. Anche il confronto con altri studi condotti su specie diverse, come i cani, ha evidenziato differenze riconducibili a fattori fisiologici (es. tipo di digestione) e ambientali (es. area urbana vs rurale). In conclusione, il capriolo si conferma un efficace bioindicatore per il monitoraggio ambientale dei PFAS, in particolare per quei composti che mostrano un comportamento di distribuzione più omogeneo tra le diverse matrici. Lo studio sottolinea l'importanza di continuare a sviluppare e perfezionare metodi analitici per l'utilizzo del pelo come matrice affidabile e non invasiva, contribuendo così al miglioramento delle strategie di biomonitoraggio

ambientale dei contaminanti emergenti. Il pelo si dimostra una matrice promettente per l'identificazione della contaminazione ambientale da PFAS, grazie alla sua accessibilità e stabilità, ma sono necessari ulteriori studi per migliorare l'affidabilità del metodo e stabilire in modo definitivo se i livelli di contaminanti rilevati nel pelo siano effettivamente rappresentativi delle concentrazioni presenti nei tessuti biologici tradizionali come fegato e muscolo.

## INTERFERENTI ENDOCRINI: STATO DELL'ARTE

***Cinzia La Rocca***

*Centro di Riferimento per la Medicina di Genere, Istituto Superiore Sanità, Roma*

“Un interferente endocrino è una sostanza esogena o una miscela di esse che altera le funzioni del sistema endocrino e conseguentemente causa effetti avversi sulla salute in un organismo sano, o nella sua progenie o nella popolazione o in sottogruppi.” Questa è la definizione di interferente endocrino proposta dall'Organizzazione Mondiale per la Sanità nel 2002 e ancora oggi valida. La definizione stessa indica quali sono gli elementi essenziali per l'identificazione e la caratterizzazione di un interferente endocrino: l'azione attraverso il sistema endocrino e che questa azione sia la causa degli effetti avversi in un organismo sano. Per agire e alterare le funzioni del sistema endocrino gli interferenti endocrini si comportano come gli ormoni, esplicando la loro azione attraverso il legame con gli stessi recettori cellulari, l'interazione con gli stessi componenti della via di segnale o di sintesi dell'ormone stesso o intervenire con modifiche epigenetiche. Di conseguenza, gli interferenti endocrini possono interferire con tutte le principali funzioni degli organismi viventi, come la crescita, la riproduzione, lo sviluppo fetale, il comportamento, il sistema nervoso. Studi recenti hanno dimostrato che gli interferenti endocrini possono avere anche altri effetti, come quelli metabolici, sul neurosviluppo o sul sistema immunitario e possono contribuire all'instaurarsi di processi cancerogeni. Date le loro caratteristiche hanno anche un impatto sulle specie animali e sulla biodiversità. Nella fauna selvatica, gli effetti che possono essere correlati all'alterazione del sistema endocrino sono stati osservati in molluschi, crostacei, pesci, rettili, uccelli e mammiferi in varie parti del mondo. In alcune specie, l'alterazione della riproduzione ha causato una diminuzione della popolazione.

Ormai si è raggiunto un consenso scientifico sul fatto che la finestra di esposizione più sensibile agli interferenti endocrini sia durante importanti periodi di sviluppo, come lo sviluppo fetale e la pubertà, e che gli effetti possano essere evidenti in epoche più avanzate rispetto al momento in cui è avvenuta l'esposizione. Tuttavia, esistono ancora delle lacune nella conoscenza. Queste riguardano in particolare: a) l'impatto che l'esposizione agli interferenti endocrini ha sullo sviluppo di malattie e sulla fauna selvatica; b) la valutazione di altri fattori quali il sesso e il genere o il sovrasfruttamento e i cambiamenti climatici, di cui tener conto per una corretta valutazione del rischio; c) l'esposizione combinata ("effetto miscela/cocktail"); d) la difficoltà a definire "livelli senza effetto osservabile" su cui basare la valutazione/gestione del rischio; e) insufficienza degli approcci tossicologici e epidemiologici disponibili per una valutazione adeguata.

L'Unione europea ha finanziato vari progetti collaborativi multinazionali, per migliorare la comprensione del meccanismo d'azione endocrino, individuare gli effetti negativi sulla salute umana e sulla fauna selvatica dell'esposizione agli interferenti endocrini e sviluppare strumenti per individuare gli interferenti endocrini e valutare gli effetti dell'esposizione agli stessi.

In parallelo, la normativa europea sulle sostanze chimiche ha perseguito l'obiettivo di garantire un elevato livello di tutela della salute umana, della salute degli animali e dell'ambiente, assicurando al tempo stesso il corretto funzionamento del mercato interno. La legislazione dell'Unione Europea è oggi riconosciuta per essere tra le più protettive al mondo e si applica a tutte le sostanze chimiche, comprese quelle con proprietà di interferenza endocrina.

Negli ultimi anni la Commissione Europea ha adottato provvedimenti nei confronti degli interferenti endocrini, per quanto riguarda i pesticidi e biocidi, sostanze chimiche in generale ("regolamento REACH"), dispositivi medici e acqua.

La ricerca come la regolamentazione degli interferenti endocrini è in continua evoluzione. La ricerca si sta rivolgendo verso lo studio di metodi alternativi (New Approach Methodologies, NAMs) per testare gli interferenti endocrini in modo più rapido, efficiente e meno costoso di quanto si possa fare con i soli modelli animali.

Inoltre, si sta incrementando la capacità di identificazione di interferenti endocrini con effetti considerati di grande rilevanza per la salute pubblica, quali ad esempio la sindrome metabolica, effetti sul sistema riproduttivo femminile, malattie cardiovascolari.

Nel 2023 la Commissione Europea ha istituito nuove classi di pericolo riguardanti l'interferenza endocrina per la salute umana e l'ambiente nell'ambito del Regolamento REACH.

Nel contesto dell'European Green Deal e della strategia per la sostenibilità delle sostanze chimiche, la Commissione Europea ha richiesto l'attuazione dell'approccio "one substance, one assessment", secondo il quale le agenzie europee (ECHA, EFSA, EMA ed EEA) si allineeranno circa la definizione di priorità, tempistiche, processi e metodologie per la valutazione attraverso una piattaforma comune di condivisione di dati.

# **ALIMENTAZIONE E INTERFERENTI ENDOCRINI: COME RIDURRE I RISCHI TOSSICI CON LA DIETA**

***Francesca Maradonna***

*Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università Politecnica delle Marche, Via Brecce Bianche, 60131 Ancona*

Negli ultimi decenni, l'attenzione della comunità scientifica e dell'opinione pubblica si è progressivamente concentrata sulla presenza di sostanze chimiche in grado di interferire con il sistema endocrino, note come interferenti endocrini (endocrine-disrupting chemicals, EDCs). Questi composti, sia di origine naturale che antropica, possono alterare l'omeostasi ormonale anche a basse concentrazioni, con potenziali effetti dannosi sulla salute umana e animale. La dieta rappresenta una delle principali vie di esposizione a tali sostanze, a causa della presenza di contaminanti in imballaggi, pesticidi, additivi alimentari e nei processi di trasformazione degli alimenti. Numerosi studi scientifici riportano che tra i contaminanti maggiormente introdotti attraverso la dieta vi sono ftalati, bisfenoli, composti perfluoroalchilici e metalli pesanti. Questi sono stati rilevati in bevande calde e fredde, nonché in alimenti di origine sia animale che vegetale. Fattori come acidità, temperatura, modalità e durata della conservazione dei cibi favoriscono il rilascio e l'accumulo di tali sostanze. Una volta ingeriti, questi contaminanti vengono assorbiti a livello intestinale e trasportati nel circolo sanguigno, dove possono provocare effetti avversi tra cui infiammazione, stress ossidativo e disturbi intestinali. Parallelamente all'interesse per le sostanze ad attività ormone-simile, negli ultimi anni l'attenzione si è focalizzata anche sull'impatto delle microplastiche presenti negli alimenti. Sebbene l'ingestione rappresenti oggi una delle principali vie di esposizione per l'uomo, restano ancora da chiarire molti aspetti relativi all'assorbimento sistemico e agli effetti tossicologici a lungo termine. Inoltre, desta preoccupazione la capacità delle microplastiche

di veicolare altre sostanze chimiche (come additivi plastici e contaminanti organici persistenti) e la loro potenziale interazione con il microbiota intestinale.

In questo contesto, la detossificazione degli alimenti dai contaminanti è diventata una priorità. Nonostante gli sforzi normativi per limitare l'uso e la dispersione di sostanze inquinanti, raggiungere un ecosistema realmente “a basso impatto” rimane un obiettivo complesso. La pervasività, la persistenza e la difficoltà di eliminazione di molti contaminanti rendono ardua la protezione della catena alimentare. Diventa quindi fondamentale affiancare alle strategie di prevenzione ambientale anche misure volte a mitigare i danni già in atto. Una delle strade più promettenti è rappresentata dall'introduzione nella dieta di alimenti ricchi di composti bioattivi, in particolare antiossidanti naturali, capaci di modulare lo stress ossidativo e i processi infiammatori indotti dai contaminanti ambientali. Studi recenti suggeriscono che l'assunzione di probiotici e alimenti ricchi in polifenoli, vitamine e altre molecole presenti in frutta, verdura e spezie possa svolgere un ruolo protettivo, contribuendo a ridurre l'impatto tossicologico dell'ingestione di sostanze inquinanti.

A supporto di ciò, diversi studi condotti nel nostro laboratorio utilizzando lo zebrafish come modello sperimentale traslazionale hanno mostrato che la somministrazione di probiotici può attenuare gli effetti tossici del bisfenolo A (BPA) sull'asse intestino-fegato-cervello, modulando il microbiota intestinale, riducendo l'infiammazione epatica e migliorando la funzione cerebrale (Giommi et al., 2024). È stato inoltre osservato un miglioramento nella qualità degli ovociti e una riduzione dello stress ossidativo e dell'apoptosi indotti dal plastificante, suggerendo un ruolo protettivo contro la tossicità riproduttiva (Giommi et al., 2021). I probiotici si sono dimostrati efficaci anche nel contrastare le alterazioni metaboliche indotte dal DiNP (Giommi et al., 2024) e la tossicità del PFOA durante le prime fasi dello sviluppo embrionale (Giommi et al., 2025).

Per quanto riguarda le microplastiche, l'integrazione nella dieta di astaxantina, un carotenoide ad azione antiossidante, ha favorito l'eliminazione delle microplastiche attraverso le feci in specie ittiche di interesse commerciale come la trota (Şener et al., 2025) e la spigola (Zarantoniello et al., 2024), migliorandone lo stato di salute generale e garantendo un prodotto d'acquacoltura qualitativamente superiore per il consumatore. Questi esempi evidenziano chiaramente il legame tra alimentazione e interferenti endocrini, sottolineando come scelte alimentari consapevoli possano contribuire in modo significativo a ridurre l'esposizione a sostanze tossiche e a promuovere la salute. In un mondo in cui l'esposizione ai contaminanti ambientali è sempre più diffusa e difficile da evitare, il cibo che scegliamo di mettere nel piatto può trasformarsi da potenziale veicolo di tossicità a strumento attivo di difesa. La consapevolezza alimentare, sostenuta dalla ricerca scientifica, ci offre una chiave concreta per mitigare gli effetti nocivi degli interferenti endocrini e delle microplastiche, contribuendo non solo alla tutela della salute individuale, ma anche alla sostenibilità dell'intero ecosistema. In questa sfida complessa, l'alimentazione non è più solo nutrimento: è prevenzione, è cura, è resistenza.

Giommi et al., (2024) *Probiotics as Potential Tool to Mitigate Nucleotide Metabolism Alterations Induced by DiNP Dietary Exposure in Danio rerio*. *Int J Mol Sci.* 25(20):11151. doi: 10.3390/ijms252011151.

Giommi et al., (2025) *Mitigation of PFOA-Induced Developmental Toxicity in Danio rerio by Bacillus subtilis var. natto: Focus on Growth and Ossification*. *Int J Mol Sci.* 26(9):4261. doi: 10.3390/ijms26094261.

Giommi et al., (2021) *Probiotic Administration Mitigates Bisphenol A Reproductive Toxicity in Zebrafish*. *Int J Mol Sci.* 22(17):9314. doi: 10.3390/ijms22179314.

Giommi et al., (2024) *The probiotic SLAB51 as agent to counteract BPA toxicity on zebrafish gut microbiota -liver-brain axis*. *Sci Total Environ.* 912:169303. doi: 10.1016/j.scitotenv.2023.169303.

Şener et al., (2025) *Mitigation of Dietary Microplastic Accumulation and Oxidative Stress Response in Rainbow Trout (Oncorhynchus mykiss) Fry Through Dietary Supplementation of a Natural Microencapsulated Antioxidant*. *Animals (Basel).* 15(7):1020. doi: 10.3390/ani15071020.

Zarantoniello et al., (2024) *Mitigating Dietary Microplastic Accumulation and Oxidative Stress Response in European Seabass (Dicentrarchus labrax) Juveniles Using a Natural Microencapsulated Antioxidant*. *Antioxidants (Basel).* 13(7):812. doi: 10.3390/antiox13070812.

# VALUTAZIONE DELL'IMPATTO DI CONTAMINANTI EMERGENTI AD AZIONE ORMONO-SIMILE SULLA FAUNA MARINA

**Francesco Alessandro Palermo**

*Scuola di Bioscienze e Medicina Veterinaria, Unità di Ricerca e Didattica di San Benedetto del Tronto (URDiS), Università degli Studi di Camerino*

L'inquinamento marino da contaminanti organici persistenti (POPs) che comprende molti contaminanti definiti "emergenti", quali composti perfluoroalchilici (PFAS), filtri solari e microplastiche (MP), costituisce una minaccia sempre più concreta per la stabilità degli ecosistemi acquatici. A tale riguardo, la nostra attività di ricerca recente si è focalizzata sugli effetti ecotossicologici di tali sostanze in specie marine bentoniche e pelagiche, monitorate nell'area costiera del bacino adriatico, mediante l'applicazione di un approccio integrato: molecolare, biochimico e morfo-funzionale.

A livello demersale, gli idrocarburi policiclici aromatici (IPA) ed i bifenili policlorurati (PCBs) si confermano tra i contaminanti organici più diffusi e persistenti raggiungendo, nell'area oggetto di studio, concentrazioni ambientali superiori ai valori soglia di 30 e 10 ng/L. Tali livelli sono risultati in grado di attivare, in un modello *in vitro* di epatociti di orata (*S. aurata*), meccanismi di segnalazione endocrina e metabolica mediati da recettori nucleari quali ER, PXR, LXR e PPAR. I dati ottenuti evidenziano la presenza di miscele complesse di contaminanti ad azione ormono-simile che si dimostrano capaci di bioaccumulare e perturbare i meccanismi molecolari coinvolti nella regolazione ormonale del metabolismo lipidico e dello sviluppo di organismi acquatici.

Dal punto di vista ecotossicologico, tali osservazioni trovano conferma in una specie demersale bioindicatore riconosciuto, quale la

triglia di fango (*Mullus barbatus*), nella quale è stata osservata una chiara stagionalità nell'accumulo di IPA a livello del tessuto muscolare e della conseguente modulazione della risposta antiossidante (*i.e.* espressione/attività di CAT, GST, SOD). Questi risultati suggeriscono una maggiore suscettibilità dell'organismo all'azione ossidativa degli IPA durante la stagione invernale, probabilmente in relazione ad una ridotta attività metabolica o detossificante. In parallelo, gli IPA sono stati trovati in concentrazioni significative nelle capsule ovigere di seppia comune (*Sepia officinalis*), considerata un innovativo modello "eco-evo-devo". Le ricerche effettuate hanno evidenziato una buona capacità di penetrazione da parte degli IPA delle membrane che costituiscono la capsula ovigera, con conseguente alterazione significativa dei profili di espressione di geni regolatori dello sviluppo embrionale (homeobox), tra cui ARX e HOX1, nonché dei recettori nucleari AhR ed ER, suggerendo una possibile azione diretta da parte degli IPA attraverso tali vie segnalazione. Ad un livello trofico superiore, sia IPA che alcuni congeneri di PCB sono frequentemente riscontrabili nel plasma di individui giovanili di *Caretta caretta*, campionati lungo le coste settentrionali e centrali dell'Adriatico italiano. I risultati ottenuti dimostrano la presenza di un'associazione significativa tra le concentrazioni di alcuni congeneri di IPA e l'espressione di geni quali: HSP60, CYP1A e ER $\alpha$ , indicando l'attivazione di una risposta molecolare precoce a tali contaminanti. Inoltre, in questi individui i livelli di metilazione globale del DNA risultano positivamente e significativamente correlati con i livelli plasmatici di IPA, suggerendo un impatto epigenetico di tali contaminanti. Oltre agli IPA, i giovanili di *Caretta caretta* monitorati mostrano un'elevata esposizione anche a contaminanti emergenti quali i filtri UV dei prodotti solari, in particolare i derivati del benzofenone che possono essere presenti in molti altri prodotti per la cura personale. In questi esemplari, l'analisi di biomarcatori molecolari a livello plasmatico dimostra un'associazione significativa tra alti livelli di filtri UV e l'espressione

di alcuni geni implicati nello stress ossidativo, nell'infiammazione e nella modulazione ormonale (e.g. CYP1B, GPX, GSTT1, DNMT1), suggerendo un possibile coinvolgimento di tali contaminanti in processi di immunotossicità ed epigenotossicità. Infine, nell'ambito dei contaminanti emergenti, i nostri studi recenti supportano il trasferimento di MP lungo le reti trofiche acquatiche, bentoniche e pelagiche, che caratterizzano l'area costiera dell'Adriatico centrale. A tal proposito, risulta di particolare interesse il ruolo di una specie di invertebrati quale il cetriolo di mare (*Holothuria tubulosa*), organismo bentonico filtratore di grande rilevanza ecologica ed economica, che si è dimostrato particolarmente suscettibile al bioaccumulo di MP e PFAS sia a livello del tratto gastrointestinale che nella cavità celomatica. Le MP rinvenute nel tratto gastrointestinale variano da 3 a 20 particelle per individuo, mentre nel fluido celomatico da 0 a 7, suggerendo dunque un possibile trasferimento attraverso l'albero respiratorio. Le analisi di correlazione hanno evidenziato una risposta tessuto-specifica legata all'attivazione di biomarcatori dello stress ossidativo (e.g. CAT, GST, MDA) e del danno al DNA, confermando la sensibilità di tale modello animale nella rilevazione degli effetti cronici e subletali di tali contaminanti emergenti.

Nel complesso, i risultati ottenuti dall'attività di ricerca condotta mettono in luce l'estensione e la complessità della contaminazione degli ecosistemi marini nel bacino adriatico e sottolineano l'importanza di un approccio integrato multidisciplinare per la valutazione degli effetti biologici dei contaminanti, in modo da identificare elementi chiave per il biomonitoraggio ambientale e la protezione della biodiversità marina.

# **MICROPLASTICHE NEI VERTEBRATI MARINI: PROBLEMI E POSSIBILI SOLUZIONI**

*Annalisa Zaccaroni*

*Dipartimento Scienze Mediche Veterinarie, Università di Bologna*

La crescente presenza di microplastiche negli ecosistemi marini rappresenta una delle principali preoccupazioni ambientali del nostro tempo. Questi piccoli frammenti derivati dalla degradazione di rifiuti plastici più grandi, o direttamente prodotti come microplastiche primarie, pongono rischi significativi per la salute dei vertebrati marini. La loro quantificazione è essenziale per comprendere l'impatto ambientale e biologico, ma il processo è complesso e caratterizzato da numerosi ostacoli. La raccolta, l'isolamento, l'identificazione e quantificazione di questi contaminanti di interesse emergente (CEC) pongono problematiche operative a volte inattese, che possono rendere difficile ottenere un risultato affidabile e, in alcuni casi, una comparazione tra studi diversi.

Inoltre, in funzione della loro dimensione, è estremamente facile andare incontro a contaminazione dei campioni, anche in laboratorio, in particolare quanto si ha a che fare con nanoplastiche, cioè particelle di dimensioni inferiori al micron.

Anche la caratterizzazione delle microplastiche rappresenta un problema non indifferente, perché variano notevolmente in dimensione, forma, colore e composizione chimica. Anche questa diversità rende difficile la classificazione e il confronto tra studi, complicando la standardizzazione delle metodologie analitiche. Le metodiche utilizzate non solo per l'isolamento, ma anche per la caratterizzazione delle MP sono estremamente diversificate e a volte costose, come la spettroscopia FTIR o la microscopia elettronica, richiedendo personale specializzato. Questi strumenti, sebbene efficaci, sono spesso inaccessibili per molti laboratori e limitano la portata degli studi, non tanto in termini quantitativi, ma

prevalentemente qualitativi. Va anche ricordato che alcune tecniche estrattive, proprio per la tipologia di “attacco” del campione, portano alla perdita di alcune tipologie di MPs, rendendo il monitoraggio in un certo senso incompleto.

Vi è poi l’aspetto relativo al campionamento negli organismi viventi, che prevede spesso la ricerca di questi CEC in contenuto gastrico e, sempre più frequentemente, in organi interni, per valutare se e quanto le MPs vengono assorbite. Si tratta quindi di un processo invasivo e spesso limitato da questioni etiche e pratiche. Inoltre, la raccolta e la conservazione dei campioni possono introdurre contaminazioni esterne, compromettendo la precisione dei risultati. Si possono però utilizzare anche matrici cosiddette non-invasive (quali ad esempio campioni fecali) che possono dare un’indicazione del livello di esposizione a MPs nelle specie considerate (sebbene in un certo qual modo sottostimato), senza per altro richiedere il sacrificio degli animali.

Nel presente lavoro verranno presentati alcuni studi svolti presso il laboratorio di Ecotossicologia del Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie dell’Università di Bologna, finalizzati a quantificare le MPs in matrici diverse (in particolare contenuti gastrici) di vertebrati marini, e le eventuali problematiche operative riscontrate durante le ricerche, con le soluzioni utilizzate per risolverle, anche in maniera comparativa.

In particolare verranno presentati gli studi effettuati in campioni gastrici di 23 esemplari di Rondinella di mare (*Hirundichthys rondelietii*) campionati nei mesi di luglio e agosto del 2020 e nel primo mese del 2021 nella zona compresa tra le isole Canarie e il Golfo di Guinea, nell’ambito del progetto SACET, su un esemplare di *Mola mola* spiaggiato nel 2024 lungo le coste romagnole, su campioni fecali di *Caretta caretta* provenienti da varie aree del Mediterraneo e di *Arctocephalus pusillus pusillus* della Namibia. Infine, verranno illustrate le problematiche riscontrate durante le analisi di campioni gastrici di squali di profondità e le soluzioni utilizzate per risolverle.

Le analisi condotte hanno confermato la distribuzione oramai globale di questi CECs, che hanno raggiunto anche i mari più profondi, e come vi sia una correlazione tra il livello di contaminazione degli ambienti terrestri e la presenza di MPs nelle aree marine vicine, come nel caso della Rondinella di mare. Hanno poi dimostrato come campionamenti non invasivi possano rappresentare un valido strumento per il monitoraggio di questi contaminanti, tenendo però in considerazione come vi sia un elevato rischio di contaminazione esterna del campione, specialmente quando raccolti durante attività di campo.

Risulta però fondamentale lo sviluppo di metodi standardizzati di campionamento ed analisi, al pari di una maggior collaborazione tra enti per facilitare ed ottimizzare la ricerca di questi contaminanti e per superare gli ostacoli operativi che si possono incontrare.

**SESSIONE**  
***“Biosensori per la salute, l’ambiente e l’alimentazione”***

# RECENT ADVANCES IN PLASMONIC BIOSENSORS FOR ULTRASENSITIVE DETECTION OF SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS IN LIQUID BIOPSY

*Noemi Bellasai*

*Dipartimento di Scienze Chimiche, Università degli studi di Catania,  
Viale Andrea Doria 6, 95125 Catania, Italy;*

*INBB, Istituto Nazionale di Biostrutture e Biosistemi, Via dei  
Carpegna 19, 00165, Rome, Italy.*

The direct detection of circulating biomarkers in liquid biopsy for early-stage diagnosis and personalised treatments plays a crucial role in controlling disease outbreaks and increasing patient survival rates [1]. Circulating cell-free DNA (ccfDNA) and circulating tumour DNA (ctDNA) are emerging blood-based biomarkers in liquid biopsy for early diagnosis, monitoring, and prognosis determination of several diseases [1]. ccfDNA consists of DNA fragments with specific alterations found in the bloodstream from both normal and tumour cells, useful for overall health monitoring, including but not limited to cancer. In contrast, ctDNA is a specific type of ccfDNA that originates exclusively from tumour cells and includes tumour-specific mutations, such as single nucleotide polymorphisms (SNPs). This discrimination enables a deeper understanding of the tumour's genetic profile, which is crucial for monitoring treatment and enhancing personalised treatment approaches. Accurate detection of specific mutations or abnormalities in ccfDNA and ctDNA, which exist in very low concentrations in liquid biopsies and often differ from wild-type sequences by only a single base change, is therefore strictly required. Currently, standard protocols for ccfDNA and ctDNA analysis involve complex sample handling and time-consuming pre-analytical procedures (e.g. sequence isolation and amplification), as

well as risks of sample contamination and assay costs, which pose critical issues in the pre-analytical steps [2]. Surface plasmon resonance (SPR) is one of the most promising optical technologies for biomarker detection in liquid biopsies, owing to its remarkable properties, including rapid, real-time, and label-free dynamic monitoring of molecular interactions. It can also be easily integrated with microfluidics platforms for a multiplexed approach [3].

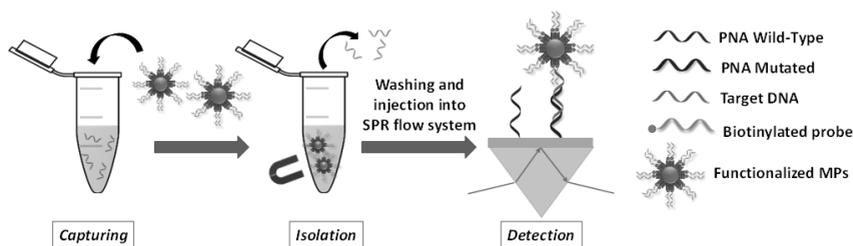
Recent advancements in plasmonic biosensors have significantly enhanced the detection of single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in liquid biopsies, presenting promising avenues for non-invasive diagnostics. For instance, our study on improving sensor surface functionalization to prevent non-specific adsorption of complex biological components from liquid biopsies (e.g., plasma proteins) has enabled enhanced detection of SNPs in the KRAS gene related to colorectal cancer. This goal was achieved by developing a new, dual-functional, low-fouling poly-L-lysine (PLL)-based polymer, combined with peptide nucleic acid probes that are complementary to the DNA target sequences. This combination effectively captures the analyte directly in human plasma while simultaneously preventing the non-specific adsorption of unrelated biomolecules. The low-fouling activity of the surface layer enabled us to detect KRAS p.G12D mutated DNA in human plasma at the attomolar level ( $\sim 2.5$  aM) and KRAS p.G13D mutated DNA from a colorectal cancer patient in a liquid biopsy application [4].

To further streamline the workflow analysis, we examined the implementation of superparamagnetic particles combined with the plasmonic assay for the discrimination of SNPs in ctDNA. Superparamagnetic particles (MPs) have emerged as promising candidates for developing biosensors as they possess highly active surfaces, excellent chemical stability, and ease of surface functionalization, which render them excellent magnetic probes for ultrasensitive signal transduction with improved sensitivity in real-time measurement by minimising the matrix effect [5]. We established

a versatile approach based on superparamagnetic particle-enhanced SPR imaging biosensors for detecting single-point mutations in non-amplified genomic DNA from colorectal cancer patients, in contrast to samples from healthy individuals. Micrometer beads functionalized with a biotinylated oligonucleotide directly capture and isolate DNA sequences with and without single-nucleotide variations of the KRAS oncogene in human blood plasma. This step also prevents other sample treatments or surface modifications that could lead to nonspecific adsorption of other biomolecules. Mutated and wild-type peptide-nucleic acid probes immobilized on the SPR gold surface discriminate complementary and non-complementary DNA targets by identifying single-nucleotide mismatches. The superparamagnetic particle-enhanced SPR assay enables the detection of p.G13D mutated DNA in buffer and human plasma at sub-attomolar levels ( $\sim 0.5$  aM) with minimal sample dilution (ratio 1:5), requiring only 20  $\mu\text{L}$  per analysis. The assay was validated using plasma from colorectal cancer patients and healthy donors, achieving complete differentiation between mutated DNA from patients and wild-type DNA from healthy donors [6].

The same approach was also applied for detecting SNPs in ccfDNA related to monogenic disorder, such as beta-thalassaemia, which circulates in embryo culture medium as a pre-implantation genetic testing method. Magnetic beads with a biotinylated oligonucleotide sequence capture and isolate the target sequences with and without single-nucleotide variations from the complex media. The assay discriminates between normal and mutant cell-free DNA using hybridization with peptide-nucleic acid probes on the plasmonic gold surface. Our assay detects hetero/homozygous mutated DNA in spiked medium and spent culture medium at sub-attomolar levels ( $\sim 0.75$  aM) with minimal manipulation and no dilution. Only 10  $\mu\text{L}$  of sample volume is needed for each analysis, providing reliable results within two hours. This plasmonic assay enables a rapid, non-invasive assessment of the embryo's genetic status for successful implantation.

In summary, plasmonic biosensors lead the field of liquid biopsies, offering unmatched sensitivity and specificity for detecting individual polymorphisms. The proposed approaches tackle challenges related to scalability, cost-effectiveness, and standardization for clinical applications.



**Figure 1.** Schematic representation of MP-enhanced SPR assay.

#### References:

- [1] D.W. Cescon, S. Bratman, S.M. Chan, L. L. Siu, *Nat. Cancer*. **2020**, *1*, 276–290.
- [2] T. Gerber, S. Taschner-Mandl, L. Saloberger-Sindhöringer N. Popitsch, E. Heitzer, V. Witt, R. Geyeregger, C. Hutter, R. Schwentner, I. M. Ambros, P. F. Ambros, *J. Mol. Diagn.* **2020**, *22*, 8, 1070–1086.
- [3] R. D’Agata, N. Bellassai, G. Spoto, *Talanta* **2024**, *266*, 125033.
- [4] N. Bellassai, R. D’Agata, A. Marti, A. Rozzi, S. Volpi, M. Allegretti, R. Corradini, P. Giacomini, J. Huskens, G. Spoto, *ACS Sens.* **2021**, *6*, 6, 2307–2319.
- [5] Xianyu Y., Wang Q., *TrAC*. **2018**, *106*, 213e224.
- [6] N. Bellassai, R. D’Agata, E. Giordani, G. Ziccheddu, R. Corradini, G. Spoto, *Talanta* **2025**, *286*, 127543.

# FILM NANOSTRUTTURATI MEDIANTE LASER PER LO SVILUPPO DI (BIO)SENSORI ELETTROCHIMICI

***Dario Compagnone***

*Department of Biosciences for Food Agriculture and Environment,  
University of Teramo*

*(Bio)Sensors And Electroanalytical Devices Integrating Laser-  
Induced Nanostructured Films*

Nanostructured film synthesis and integration into sensors, biosensors, and paper-based analytical devices (PAD) still represent a critical issue. To overcome tedious, expensive, and not sustainable conventional fabrication techniques, several efforts are devoted to implementing effective and affordable technologies to produce nanomaterial based devices. Benchtop-scale CO<sub>2</sub> laser plotter-based technologies represent a captivating opportunity to produce graphenic and graphitized surfaces/structures and drive nano-decoration/heterostructure formation.

This presentation will be focused on the production of different functional nanostructured films via CO<sub>2</sub>-laser plotter and their integration within completely lab-made biosensors and PAD, with the aim of reducing the use of solvents/chemical compounds as much as possible and generating virtuous circles from an environmental and economic point of view. Particular attention will be paid to biosensors and PAD manufacturing using low-cost/sustainable substrates (i.e., nitrocellulose, paper, recycled paper, paper produced from wastes, etc.) via benchtop microfabrication technologies such as stencil-printing, cutter-plotting, CO<sub>2</sub>-laser molding, thermal-lamination, etc.. The exploitability of the developed devices will be demonstrated for the analysis of food quality and safety markers, and compounds of biological interest in model solutions and real samples. The following

electrochemical devices will be presented: (i) electrochemical sensors based on laser-induced reduced graphene oxide films integrated into recycled papers and paper produced from industrial wastes for different analytes in different samples (food, supplements/drugs, urine); (ii) an integrated paper/graphene 3D pop-up device for the quantitative sensing of carbaryl in grains at EU-law limits; (iii) activated inks/graphene-based 3rd generation paper-based biosensors for the determination of fructose and inulin in food and biological samples

This presentation aims to prove how CO<sub>2</sub>-laser plotter-based technologies are able to generate nanostructured sensing surfaces and transducers that can be integrated/interfaced through everyone-reach technologies in/with paper-based substrates, opening new paths for the development of on-demand sustainable devices able to ensure the required analytical needs.

# **BRINGING THE LAB TO THE PATIENT: PORTABLE SMART BIOSENSORS FOR POINT-OF- CARE DIAGNOSTICS**

*Simone Fortunati*

*Department of Chemistry, Life Sciences and Environmental Sustainability, University of Parma, Italy*

In recent years, it has become increasingly clear that, although clinical diagnostics have achieved impressive results in terms of sensitivity and accuracy, they are limited by the need to use expensive instrumentation in dedicated laboratories. In addition, several steps are required for the analysis of biological samples obtained from patients, including sample collection, transportation and treatment. Furthermore, considering that analyses often involve time-consuming tests, the time required from sample collection to diagnosis can be extremely long, especially for routine tests or for diseases that require timely intervention. To overcome the limitations posed by current clinical diagnostics approaches, Point-of-Care (PoC) biosensors have emerged as promising versatile tools. The paradigm underlying PoC biosensors is to provide low-cost, rapid, robust and portable devices to enable diagnosis directly at the point of need, i.e. in hospital settings or even at the patient's home [1]. These features can be achieved using genosensors and immunosensor exploiting the unique characteristics of electrochemical transduction, which allows integration with acquisition devices that are more suitable for miniaturisation than other mechanisms such as optical transduction. Thanks to their compactness and portability, these devices can also be equipped with on-board wireless connection that allows integration into smart environments, such as the Internet of Things (IoT) [2]. IoT protocols are useful for data encryption and data transfer to a cloud service for storage and/or further processing through advanced data treatments

(e.g., Machine Learning) [3]. Finally, the results can be accessed from the cloud and transferred to the device of the user or physician.

In this context, numerous PoC applications have been devised by integrating micro- and nano-material-based immobilisation substrates such as carbon nanotubes [4], gold nanoparticles [2] and micromagnetic particles [1,5,6] with novel receptors, including DNA mimics [5] for theranostic liquid biopsy, aptamers [7], antibodies [8] and engineered proteins [3] for the detection of viral infections and peptides for the detection of tumour biomarkers [9]. These genosensors and immunosensors have been interfaced with prototypes of a smart and portable device capable of performing differential pulse voltammetry analysis [10]. The device has undergone continuous improvement of its capabilities, starting from a WiFi-enabled electrochemical acquisition device [11] to finally become a multichannel platform implementing Machine Learning data processing [12]. The integration of the device with electrochemical biosensors has allowed to successfully detect several biomarkers of interest for PoC applications, including the diagnosis of celiac disease [2], ovarian cancer [6], colorectal cancer [5] and Sars-CoV-2 infection [3] and immunity [8].

The synergy between electrochemical biosensors and portable smart acquisition devices offers a significant advantage for clinical applications, enabling rapid diagnosis in decentralised settings with real-time sharing of results, as well as the opportunity to create a patient data repository for long-term monitoring of relevant biomarkers. As a result, the application of IoT in PoC analysis plays a key role in reducing healthcare costs and improving treatment outcomes.

#### **References:**

1. Fortunati, S.; Giannetto, M.; Giliberti, C.; Mattarozzi, M.; Bertucci, A.; Careri, M. *Analysis & Sensing* **2023**. <https://doi.org/10.1002/anse.202300062>.

2. *Giannetto, M.; Bianchi, V.; Gentili, S.; Fortunati, S.; De Munari, I.; Careri, M. Sens Actuators B Chem* **2018**, *273*, 1395–1403. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.07.056>.
3. *Fortunati, S.; Giliberti, C.; Giannetto, M.; Bolchi, A.; Ferrari, D.; Donofrio, G.; Bianchi, V.; Boni, A.; De Munari, I.; Careri, M. Biosensors* **2022**, *12*, 426. <https://doi.org/10.3390/bios12060426>.
4. *Fortunati, S.; Vasini, I.; Giannetto, M.; Mattarozzi, M.; Porchetta, A.; Bertucci, A.; Careri, M. Anal Chem* **2022**, *94*, 5075–5083. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.1c05294>.
5. *Fortunati, S.; Giliberti, C.; Giannetto, M.; Bertucci, A.; Capodaglio, S.; Ricciardi, E.; Giacomini, P.; Bianchi, V.; Boni, A.; De Munari, I.; Corradini, R.; Careri, M. Biosens Bioelectron X* **2023**, *15*, 100404. <https://doi.org/10.1016/j.biosx.2023.100404>.
6. *Mattarozzi, M.; Giannetto, M.; Careri, M. Talanta* **2020**, *217*, 120991. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.120991>.
7. *Curti, F.; Fortunati, S.; Knoll, W.; Giannetto, M.; Corradini, R.; Bertucci, A.; Careri, M. ACS Appl Mater Interfaces* **2022**, *14*, 19204–19211. <https://doi.org/10.1021/acsami.2c02405>.
8. *Fortunati, S.; Giannetto, M.; Giliberti, C.; Bolchi, A.; Ferrari, D.; Locatelli, M.; Bianchi, V.; Boni, A.; De Munari, I.; Careri, M. Sensors* **2022**, *22*, 5463. <https://doi.org/10.3390/s22145463>.
9. *Fortunati, S.; Giannetto, M.; Pedrini, F.; Nikolaou, P.; Donofrio, G.; Bertucci, A.; Careri, M. Talanta* **2024**, *279*, 126577. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2024.126577>.
10. *Bianchi, V.; Boni, A.; Bassoli, M.; Giannetto, M.; Fortunati, S.; Careri, M.; De Munari, I. IEEE Access* **2021**, *9*, 141544–141554. <https://doi.org/10.1109/ACCESS.2021.3120022>.
11. *Bassoli, M.; Bianchi, V.; Boni, A.; Fortunati, S.; Giannetto, M.; Careri, M.; De Munari, I. Applications in Electronics Pervading Industry, Environment and Society* **2022**; pp 53–60. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-95498-7\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-030-95498-7_8).
12. *Boni, A.; Bianchi, V.; Fortunati, S.; Giannetto, M.; Careri, M.; De Munari, I. IEEE Trans Instrum Meas* **2022**, *1–12*. <https://doi.org/10.1109/TIM.2022.3228004>.

# **SVILUPPO DI UN DISPOSITIVO DIAGNOSTICO IN VITRO BASATO SU IMMUNO-SERS PER LA RILEVAZIONE ULTRASENSIBILE E RAPIDA DI BIOMARCATORI TUMORALI**

*Valentina Gallo*

*Dipartimento di Scienze, Università degli Studi Roma Tre, Viale G. Marconi 446, Roma*

La prevenzione del cancro rappresenta una delle sfide più importanti della società contemporanea e il continuo sviluppo delle tecnologie diagnostiche, combinato con i progressi nel campo della bioinformatica, sta dando un contributo sempre maggiore alla ricerca medica nell'affrontare questa problematica.

In questo contesto, l'individuazione di biomarcatori tumorali in matrici biologiche complesse (e.g., fluidi biologici, tessuti) rappresenta attualmente uno degli strumenti principali a supporto della diagnosi precoce, della prognosi e del monitoraggio della risposta terapeutica in oncologia. Sebbene l'identificazione di marcatori tumorali in pazienti ancora asintomatici sia cruciale per una diagnosi precoce, la sua applicazione è attualmente limitata dalla sensibilità relativamente bassa o dalla complessità delle metodologie attualmente in uso.

Recentemente, abbiamo sviluppato un sistema basato sulla spettroscopia Raman amplificata da superfici (SERS) per la rilevazione ultrasensibile e la quantificazione di biomarcatori in matrici biologiche complesse. Questo metodo ha previsto la messa a punto di una procedura di funzionalizzazione di substrati d'oro nanostrutturati, finalizzata all'immobilizzazione covalente e direzionale di anticorpi monoclonali, da utilizzare come piattaforme analitiche, configurando una tecnica semplificata di immuno-SERS che combina l'elevata specificità degli anticorpi con la sensibilità della

spettroscopia Raman. Il sistema si è dimostrato efficace nella rilevazione ultrasensibile della proteina LGALS3BP (90K) in campioni di siero provenienti da pazienti affette da carcinoma mammario, che abbiamo utilizzato come modello di biomarcatore<sup>1</sup>. I vantaggi offerti da questo metodo includono inoltre semplicità d'uso, rapidità di analisi e bassa o nulla invasività.

La messa a punto di questo sistema immuno-SERS è stata propedeutica alla attualmente in corso prototipazione di un sistema intelligente di tipo bioinformatico, in grado di interpretare in maniera automatizzata gli spettri ottenuti dai campioni biologici della popolazione censita. Questo sistema è progettato per sostituire la difficile interpretazione attualmente eseguita da personale esperto, automatizzando il processo e rendendolo più efficiente e flessibile. Inoltre, il sistema sarà dotato di capacità di auto-apprendimento, permettendo di affinare progressivamente il proprio potere predittivo attraverso l'analisi continua di nuovi dati.

I risultati finora ottenuti costituiscono il punto di partenza per lo sviluppo di un dispositivo medico-diagnostico in vitro (IVD) per test Point of care (POCT), con un potere predittivo superiore rispetto ai metodi attualmente utilizzati nella diagnostica oncologica. È importante sottolineare che questo dispositivo, permettendo una diagnosi non invasiva direttamente al letto del paziente, potrebbe aprire la strada a una medicina di prossimità più efficace e accessibile.

#### ***Riferimenti bibliografici***

Gallo V, Lai A, Pasquo A, et al. Surface-enhanced Raman scattering (SERS)-based immunosystem for ultrasensitive detection of the 90K biomarker. *Anal Bioanal Chem.* 2020;412(27):7659-7667. doi:10.1007/s00216-020-02903-2.

# **NUCLEIC ACID-BASED SYSTEMS: NEW APPROACHES FOR THE ULTRASENSITIVE DETECTION OF BIOMARKERS**

*Simona Ranallo*

*University of Rome Tor Vergata*

The detection of antibodies and other proteins plays a crucial role in the diagnosis of a variety of human diseases. Due to the low concentrations (low nM to pM) at which these biomarkers are usually found in clinical samples, the detection methods need to be not only specific and selective, but also particularly sensitive. To achieve this goal, signal amplification strategies are generally used, such as in the enzyme-linked immunosorbent assay. However, this requires reagent-intensive processes and multiple washing and reaction steps, leading to relatively high costs and limiting the applicability at the point of care (POC). In response to the urgent need for new analytical tools for rapid, cost-effective, and quantitative measurement of biomarkers, our group has reported several approaches based on different signaling strategies, taking advantage of the programmability and versatility of synthetic DNA.[1-3] However, all these approaches based on the use of antigen-conjugated DNA strands share a common limitation: due to the direct nature of the assay and the lack of amplification step, their sensitivity is in the nanomolar range. In response to the above considerations, we have recently developed an electrochemical platform that combines the programmability and versatility of antibody-responsive DNA strand displacement reactions with the sensitivity of enzyme amplification to achieve ultrasensitive antibody detection.[4] We have demonstrated the sensitive (low picomolar detection limit), specific (no signal is observed in the presence of non-specific antibodies), selective (the platform can be employed in complex media, including 90% serum) and multiplexed detection of

five different antibodies, three of which are clinically relevant. For all these reasons, our platform opens the door for the development of new classes of DNA-based sensors for ultrasensitive detection.

Our start-up Fabrica Biosystems focuses on transforming such the technology thus developed into a ready-to-use, user-friendly kit for practical application at the point-of-care and in research and development.

[1] Bracaglia S, Ranallo S, Plaxco KW, Ricci F. *ACS Sens.* 2021, 6, 2442-2448.

[2] Patino-Diaz A, Bracaglia S, Ranallo S, Patino T, Porchetta A, Ricci F. *J. Am. Chem Soc.* 2022, 144, 5820–5826.

[3] Bracaglia S, Ranallo S, Ricci F. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2023, 62, e202216512.

[4] Diaz-Fernandez A, Ranallo S, Ricci F. *Angew Chem Int Ed* 2024, 63, e202314818.

**SESSIONE**  
***“Spin Off e trasferimento tecnologico”***

## **SPIN OFF E TRASFERIMENTO TECNOLOGICO**

*Pietro Ragni Direttore INBB e Filippo Surace Presidente CUBE LABS*

Il Consorzio INBB nel 2016 decise di dar corso a quanto previsto dallo Statuto, offrendo un supporto concreto ai propri aderenti nel realizzare attività di trasferimento tecnologico. Pertanto fu offerta allora e viene riproposta annualmente l'opportunità di presentare una ipotesi imprenditoriale calibrata sui risultati della propria attività di ricerca e ricompresa nell'ambito delle Life Science.

Nel giro dei primi mesi di attività fu formalizzata la Procedura di valorizzazione dei risultati dell'attività scientifica, che prevede l'organizzazione di tre fasi operative:

- a) analizzare scientificamente le proposte d'impresa dei propri aderenti che abbiano depositato un brevetto o siano orientati a farlo o abbiano messo a punto un processo innovativo;
- b) collaborare con una struttura idonea a favorire l'innovazione, per esaminare le proposte selezionate dal punto di vista del potenziale impatto sul mercato e, in caso affermativo, fondare un nuovo spin off;
- c) supportare ciascun spin off fondato per permettere la sua crescita sia scientifica, sia operativa, anche tramite la cooperazione con gli altri spin off.

Avviata la fase a), INBB ha individuato come proprio partner per le fasi b) e c) il principale venture builder e acceleratore d'innovazione italiano, Cube-Labs. Con tale struttura ha stipulato una convenzione operativa che ha permesso, negli otto anni dal 2017 al 2024, la fondazione di 15 Spin off innovativi.



**CUBE LABS**

Per ciascun spin off è stato realizzato: a) documento di presentazione dell'idea progettuale e del prodotto; b) studio del mercato di riferimento; c) due diligence iniziale ad opera di entità esterne; d) logo e sito web; e) impostazione linee di sviluppo a breve e medio termine; f) adempimenti societari; g) alleanza strategica con vari stakeholder mondiali, per catalizzare l'innovazione; h) supporto nella richiesta di registrazione brevetti; i) eventuale cooperazione con uno o più degli altri spin off; j) accordi di co-investimento.

L'ecosistema, costruito con il modello di Cube Labs, si distingue per un approccio integrato che abbraccia e supera i modelli tradizionali ed unisce mondo accademico, capitale privato, capitale pubblico e competenze specialistiche, agendo come infrastruttura di sistema per il trasferimento tecnologico nel Paese.

Nel 2023 Cube Labs ha debuttato nel Segmento Professionale di Euronext Growth Milan della Borsa italiana ed ha ottenuto fra le migliori performance nel biennio successivo. Inoltre ha promosso numerosi contatti nazionali, europei ed internazionali per supportare efficacemente l'ecosistema di spin off che abbiamo creato nell'area delle Life Science.

# **LIPOVEXA: NUOVE STRATEGIE PER LE MALATTIE METABOLICHE**

***Marco Falasca***

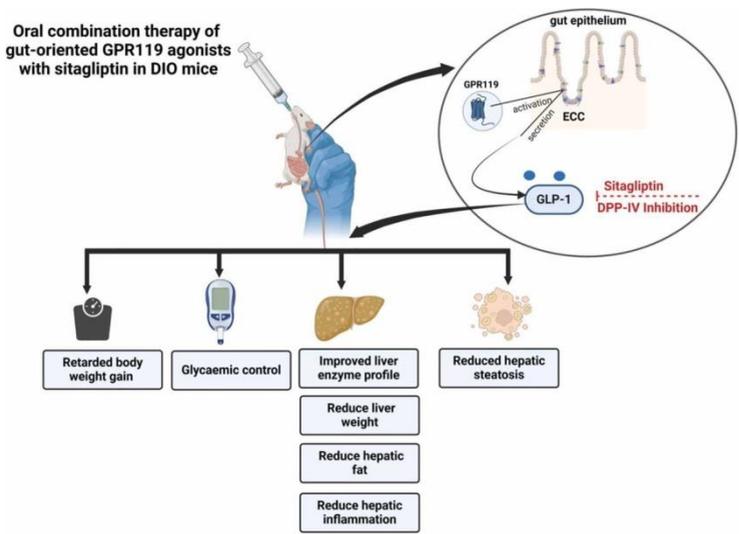
*Università di Parma, Dipartimento di Medicina e Chirurgia, Via Volturno 39, 43125 Parma, Italia*

Lipovexa è uno spin-off accademico dedicato allo sviluppo di soluzioni innovative per la prevenzione e il trattamento delle malattie metaboliche, con un focus su diabete, obesità e salute epatica. Il progetto si basa sull'identificazione e lo sviluppo di molecole naturali, come l'oleoyl-LPI, e di analoghi sintetici, capaci di agire come nutraceutici e/o molecole farmacologiche mirate (secretagoghi GLP-1/GIP). L'originalità dell'approccio risiede nella capacità di queste molecole di modulare selettivamente meccanismi neuro-metabolici coinvolti nella regolazione dell'appetito, della sazietà, del metabolismo lipidico e della secrezione ormonale. A differenza delle terapie attualmente disponibili, la tecnologia proposta da Lipovexa stimola il rilascio endogeno del GLP-1, migliorando l'efficacia e la tollerabilità delle strategie terapeutiche. Lo spin-off promuove inoltre l'adozione di metodi di produzione sostenibili e in linea con i principi dell'economia circolare, utilizzando sottoprodotti dell'industria alimentare, come i residui solidi dell'olio d'oliva, per ottenere biomolecole attive di interesse.

Le attività precliniche hanno dato origine a tre linee di ricerca principali:

- 1) Sviluppo di nuovi agonisti della small molecule GPR119, con valutazione dell'efficacia in modelli murini di obesità indotta dalla dieta.
- 2) Valorizzazione di sottoprodotti alimentari per la produzione sostenibile di composti bioattivi.
- 3) Progettazione di nuovi secretagoghi GLP-1/GIP a potenziale impatto terapeutico.

4) Con un approccio integrato tra innovazione scientifica e sostenibilità ambientale, Lipovexa si propone come un nuovo attore nel panorama delle biotecnologie applicate alla salute metabolica.



## **Bibliografia**

- 1) Arijfin SA, Paternoster S, Carlessi R, Casari I, Ekberg JH, Maffucci T, Newsholme P, Rosenkilde MM, **Falasca M**. Oleoyl-lysophosphatidylinositol enhances glucagon-like peptide-1 secretion from enteroendocrine L-cells through GPR119. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*. 2018 Sep;1863(9):1132-1141.
- 2) Paternoster S, **Falasca M**. Dissecting the Physiology and Pathophysiology of Glucagon-Like Peptide-1. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018 Oct 11;9:584.
- 3) Paternoster S, Simpson PV, Kokh E, Kizilkaya HS, Rosenkilde MM, Mancera RL, Keating DJ, Massi M, **Falasca M**. Pharmacological and structure-activity relationship studies of oleoyl-lysophosphatidylinositol synthetic mimetics. *Pharmacol Res*. 2021 Oct;172:105822.
- 4) Lian J, Casari I, **Falasca M**. Modulatory role of the endocannabinoidome in the pathophysiology of the gastrointestinal tract. *Pharmacol Res*. 2022 Jan;175:106025.
- 5) Patil M, Casari I, Warne LN, **Falasca M**. G protein-coupled receptors driven intestinal glucagon-like peptide-1 reprogramming for obesity: Hope or hype? *Biomed Pharmacother*. 2024 Mar;172:116245.
- 6) Patil M, Casari I, Thapa D, Warne LN, Dallerba E, Massi M, Carlessi R, **Falasca M**. Preclinical pharmacokinetics, pharmacodynamics, and toxicity of novel small-molecule GPR119 agonists to treat type-2 diabetes and obesity. *Biomed Pharmacother*. 2024 Aug;177:117077.
- 7) **Patil M**, Thapa D, Warne LN, Lareu RR, Dallerba E, Lian J, Massi M, Carlessi R, **Falasca M**. Chronic metabolic effects of novel gut-oriented small-molecule GPR119 agonists in diet-induced obese mice. *Biomed Pharmacother*. 2024 Dec;181:117675.

# MYRTOVIVA: NATURAL EXTRACTS FOR SKIN REJUVENATION

***Margherita Maioli***

*Department of Biomedical Sciences, University of Sassari, Viale San Pietro 43/B, 07100 Sassari, Italy, mmaioli@uniss.it*

Skin is constantly exposed to ultraviolet (UV) radiation, a major contributor to premature aging, which is characterized by phenotypic alterations, functional decline, and degradation of the extracellular matrix (ECM). In recent years, nanotechnology has emerged as a promising approach for the targeted delivery of natural bioactive compounds aimed at tissue regeneration and rejuvenation. In this context, we developed NanoPCL-M, an innovative nanodevice consisting of polycaprolactone (PCL) nanofibers functionalized with Myrtle (*Myrtus communis* L.) extract, a Mediterranean plant known for its antioxidant, anti-inflammatory, and wound-healing properties.



This nanodevice enables the controlled release of bioactive molecules, thereby enhancing their bioavailability and stability. In a dynamic *in vitro* co-culture model of skin cells, NanoPCL-M exhibited protective effects against UV-induced aging, preserving the structural integrity of the ECM and promoting Collagen I deposition. At the molecular level, NanoPCL-M modulated key signaling pathways involved in the senescence of skin stem cells (SSCs) and human foreskin fibroblasts (HFF1), thereby contributing to the maintenance of skin regenerative potential. *In vitro* assays, including BrdU incorporation and MTT viability tests, confirmed the positive impact of NanoPCL-M on cell

proliferation and metabolic activity in both fibroblasts and skin stem cells. Overall, these findings highlight the potential of combining natural compounds with nanomaterials as a novel, translational strategy for preventing skin aging and promoting tissue regeneration in dermatological applications.

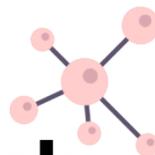
## SKIN PLASTIC LAB E REGENERABIOMA: DUE SPIN-OFF PER LA RIGENERAZIONE DELLA CUTE

*Giovanni Papa*

*Univ. Trieste*

### **Skin Plastic Lab: Tecnologie di Frontiera per la Diagnostica Termografica**

Skin Plastic Lab è uno spin-off del venture builder Cube Labs e del Consorzio INBB, attivo nello sviluppo di soluzioni MedTech avanzate per la diagnostica nella chirurgia plastica e nel wound care. Il progetto di punta della società è **Thermal Matrix**, un dispositivo medico innovativo che integra una matrice di sensori termografici all'interno di una benda biocompatibile. La tecnologia consente di acquisire in modo non invasivo mappe termiche ad alta risoluzione, permettendo di correlare la temperatura superficiale cutanea al grado di vascolarizzazione tissutale, con impatti rilevanti nella gestione pre- e post-operatoria delle ferite croniche e complesse.



# Skin Plastic Lab

Thermal Matrix si propone come una soluzione clinicamente rilevante per il monitoraggio della vitalità dei tessuti, contribuendo alla medicina personalizzata attraverso un'interfaccia intelligente e integrabile nei percorsi terapeutici.

Recentemente, lo spin-off è risultato vincitore del bando *Booster for Life Science FVG – TRL Advancement*, promosso dalla Regione Autonoma Friuli Venezia Giulia e dal Cluster Scienze della Vita del

Friuli Venezia Giulia, e mira a consolidare l'applicabilità del dispositivo in ambito clinico, con potenziali ricadute significative sulla sostenibilità dei sistemi sanitari e sul carico assistenziale dei caregiver.

### **Regenerabioma: Rigenerazione cutanea modulata dal microbiota**

Regenerabioma è uno spin-off del venture builder Cube Labs e del Consorzio INBB, focalizzato sull'applicazione integrata delle biotecnologie e dei materiali avanzati nel settore del wound care rigenerativo. Il progetto sviluppa una piattaforma innovativa per il trattamento delle cicatrici e, in un secondo momento, delle ferite complesse, sfruttando il potenziale del microbiota-l'ecosistema complesso di trilioni di microrganismi all'interno e sul nostro corpo.



L'approccio scientifico di Regenerabioma si fonda sulla crescente evidenza del ruolo del microbiota nel mantenimento dell'integrità della barriera cutanea e nei processi riparativi.

Il prodotto in fase di sviluppo è un cosmetico funzionale a base di un delivery system innovativo arricchito da microrganismi, destinato a evolvere in una soluzione terapeutica avanzata per le ferite croniche e complesse. Regenerabioma mira a promuovere la sostenibilità dei sistemi sanitari attraverso l'impiego di sostanze biocompatibili che non necessitano di derivati chimici non sostenibili per la loro sintesi, garantendo al contempo un'azione adattiva rispetto al microbioma individuale.

Il progetto si caratterizza per una pipeline chiara: dalla validazione sperimentale in vitro, alla prototipazione del Minimum Viable Product

(MVP), fino alla strategia regolatoria per l'accesso al mercato cosmetico.

Nel luglio 2024, Regenerabioma è stata una delle 11 realtà innovative premiate all'interno della Call 4 Ideas, promossa dalla Regione Autonoma Friuli Venezia Giulia e dal Cluster Scienze della Vita del Friuli Venezia Giulia – gestito dal Polo Tecnologico Alto Adriatico.

# **FLUODETECT: UNA START-UP PER RILEVARE MICRO E NANOPLASTICHE NELL'AMBIENTE**

***Luca Prodi***

*Dipartimento di Chimica “Giacomo Ciamician”, Via Selmi 2, 40126 Bologna*

Plastics environmental pollution is exponentially increasing; in particular, micro- and nano-plastics (MNPs) constitute a serious concern from the ecological point of view [1][2]. Nonetheless, despite the increasing toxicological concerns associated with MNPs also in relation to human health, comprehensive regulatory frameworks and robust analytical methodologies for their thorough identification and quantification remain underdeveloped [3]. Our research group has recently developed a protocol to functionalize hyaluronic acid with rhodamine B to obtain a fluorogenic probe for the detection of MNPs [4] with high sensitivity and resolution (down to 100 nm). As far as the mechanism is concerned, this material forms nanogels in which the fluorophore undergo self-quenching in solution, while it recover its pristine intense fluorescence upon interacting with the surface of MNPs.

Currently, aiming to move towards a co-staining approach with multiple probes – in particular to avoid false-positive results – we are building up a library of multicolor fluorophoric biopolymers that can best deal with the analysis of complex environmental samples. In this way we intend to overcome the problem of non-selective interaction of the probes over different species, exploiting a combination of color signals to discriminate plastic pollutants from various organic and inorganic interferents.

FluoDetect, a start-up company established in 2024, is interested in developing this technology bringing with the aim to enter the market of the detection of MNPs targeting \_ in its first period of life – environmental samples.

## References

- [1] Website ECHA (European Chemical Agency): <https://echa.europa.eu/it/hot-topics/microplastics>
- [2] “Sources, Fate And Effects Of Microplastics In The Marine Environment: A Global Assessment”; GESAMP 2015
- [3] C. Capolungo, D. Genovese, M. Montali, E. Rampazzo, N. Zaccheroni, and L. Prodi, “Photoluminescence-Based Techniques for the Detection of Micro- and Nanoplastics”; *Chem. Eur. J.*, **2021**, 27, 17529–17541
- [4] M. Cingolani, E. Rampazzo, N. Zaccheroni, D. Genovese and L. Prodi, “Fluorogenic hyaluronan nanogels for detection of micro- and nanoplastics in water”; *Environ. Sci.: Nano*, **2022**, 9, 582-588

## STEM SEL®: YOUR BEST COLLECTION

**B. Roda<sup>1,2,3</sup>, A. Zattoni<sup>1,2,3</sup>, P. Reschiglian\*<sup>1,2,3</sup>, e S. Zia<sup>1</sup>**

1. *Stem Sel Srl, V.le G. Fanin 48, 40127 Bologna*

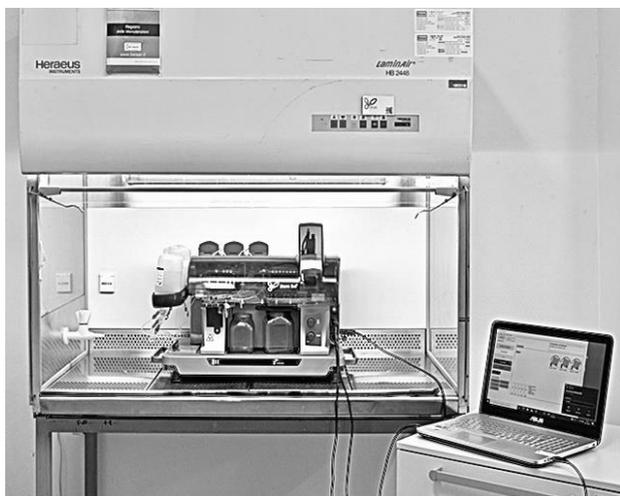
2. *Dipartimento di Chimica “G. Ciamician”, Via P. Gobetti 83, 40129 Bologna*

3. *Consorzio Interuniversitario INBB, Via dei Carpegna 19, 00165 Roma*

Benché esistano già sul mercato strumentazioni e metodi per l’analisi completa, il controllo di qualità e la preparazione di prodotti per Medicina Rigenerativa e Personalizzata, in particolare a base di cellule staminali, la loro efficacia non è ancora sufficiente per controllare con assoluta certezza e con la minima invasività la purezza e sicurezza delle cellule. Questo è un fattore limitante per la definitiva esplosione del mercato delle Terapie Cellulari e della Medicina Personalizzata. Per rispondere a questo bisogno, abbiamo inventato, brevettato e sviluppato un metodo separativo per la selezione senza marcatura e il controllo di qualità in condizioni native di cellule staminali ricavate da tessuti umani adulti. Le successive fasi di sviluppo di tale metodo e relativa tecnologia hanno posto le basi per l’avvio di un progetto d’impresa, denominato Stem Sel®, con la mission di realizzare e portare sul mercato una strumentazione che implementasse tale tecnologia brevettata, denominata Celector®, il “cromatografo cellulare”. Fondata come Startup Innovativa da una compagine sociale che comprendeva oltre agli inventori anche un gruppo di imprenditori italiani con il ruolo di business angel, Stem Sel® Srl ha successivamente inventato e brevettato un dispositivo fluidico per la realizzazione del metodo e tecnologia inizialmente brevettati.

Il percorso di industrializzazione di Celector® è stato supportato da successivi round di investimento e finanziamento da parte di soggetti pubblici e privati. Celector® ha così raggiunto il TRL9 e ha superato sia i test di certificazione come Apparecchiatura CE da Laboratorio

che la validazione per il processo di selezione di cellule staminali. Pochi mesi fa, il fondo di Cassa Depositi e Prestiti (CDP) “Rilancio StartUp” ha finanziato, tramite uno Strumento Finanziario Partecipativo (SFP) “convertendo”, le attività di Stem Sel® per il raggiungimento della fase Good Manufacturing Practice (GMP) di Celector®, che consentirà alla strumentazione di essere collocata all’interno di impianti per la produzione di cellule per terapia sull’uomo.



Celector® al lavoro

## **RIPARAZIONE TISSUTALE E NON SOLO. CARTILAGO UNO SPIN OFF DI SUCCESSO**

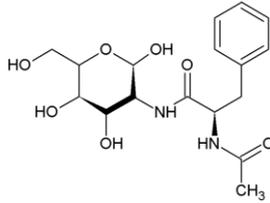
***Anna Scotto d'Abusco***

*Dipartimento di Scienze Biochimiche "A. Rossi Fanelli" – Sapienza  
Università di Roma.*

Lo spin off Cartilago è nato nel 2018, con l'obiettivo di sviluppare biotecnologie nell'ambito della medicina rigenerativa mirata soprattutto alla cura dell'Osteoartrite (OA) e delle patologie che coinvolgono la degenerazione cartilaginea. Altro obiettivo importante di Cartilago è la riparazione cutanea sia per la cura delle ferite che per contrastare l'invecchiamento ([cartilago.it](http://cartilago.it)).



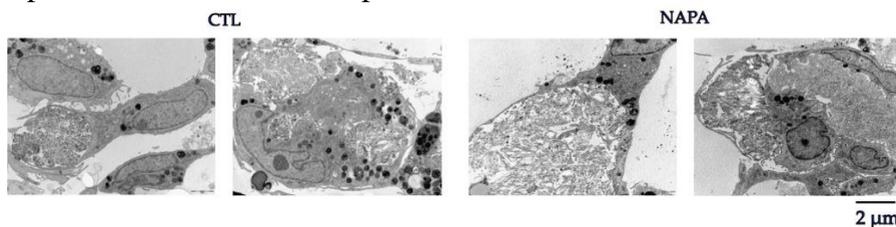
Entrambi gli obiettivi si basano sull'utilizzo di una molecola, un derivato peptidico della Glucosammina, il 2-(N-Acetyl)-L-phenylalanylamido-2-deoxy- $\beta$ -D-glucose (NAPA) (Fig. 1). Attualmente la Cartilago ha ottenuto un brevetto internazionale sull'utilizzo di NAPA, valido in Europa, negli USA e in Giappone. L'osteoartrite è la più diffusa patologia degenerativa delle articolazioni, riguarda tutte le componenti dell'articolazione, quali la membrana sinoviale, la cartilagine e l'osso subcondrale, causando dolore e disabilità (1). È una patologia particolarmente diffusa nel mondo, soprattutto in quei paesi dove l'aspettativa di vita è piuttosto lunga.



**Figura 1.** 2-(N-Acetyl)-L-phenylalanyl-amido-2-deoxy- $\beta$ -D-glucose (NAPA).

Stime attuali stabiliscono che a livello mondiale colpisce circa 15% delle persone, soprattutto in età superiore ai 50 anni. Le articolazioni più colpite sono le ginocchia, le anche, le mani e la colonna vertebrale. Considerando la prevalenza della OA e i soggetti colpiti, spesso ancora in età lavorativa, comporta un impatto piuttosto gravoso per l'intera società. L'eziopatogenesi della OA, pur non completamente chiarita, si basa prevalentemente sull'insorgenza di una infiammazione cronica di basso grado, che ha inizio a livello della membrana sinoviale, gli stimoli pro-infiammatori colpiscono in prima battuta la sinovia, quindi il tessuto cartilagineo e infine l'osso subcondrale (2). Nella cartilagine sana, i condrociti, l'unico tipo cellulare presente in questo tessuto, si trovano in uno stato quiescente, non proliferativo, con l'unico compito di produrre e deporre i componenti della matrice extracellulare (ECM) e gli enzimi degradativi di tali componenti per assicurarne il ricambio periodico. Nella OA, gli stimoli pro-infiammatori da parte della membrana sinoviale inducono i condrociti ad uscire dal loro stato quiescente, pertanto cominciano a proliferare, perdendo il loro stato differenziato e producendo componenti della matrice non idonei e un eccesso di enzimi degradativi e citochine pro-infiammatorie, mantenendo in questo modo uno stato alterato che in ultima analisi porta alla distruzione della cartilagine. Ad oggi non esistono cure definitive per la OA, che viene quindi trattata farmacologicamente con analgesici e antinfiammatori non steroidei (3). Questo tipo di trattamento è affiancato da nutraceutici, quali glucosamina, condroitin solfato, curcumina, estratti di *Harpagophytum procumbens* e *Boswellia*

*serrata*, con il duplice obiettivo di ottenere sia un'azione antinfiammatoria con sostanze che presentano minori effetti collaterali e che una stimolazione di nuova matrice extracellulare. Gli studi iniziali condotti sui derivati della glucosammina avevano lo scopo di individuare una molecola che fosse più efficace della glucosammina stessa sia come antinfiammatorio che come stimolante della sintesi di ECM. Fra le varie molecole studiate NAPA è risultata la più efficace (4). L'azione antinfiammatoria è stata dimostrata sia in una linea condrocitaria immortalizzata che su condrociti primari umani, NAPA induce la diminuzione di citochine pro-infiammatorie e di enzimi degradativi della matrice (5). La sua azione si esplica tramite l'inibizione del fattore di trascrizione NF- $\kappa$ B e più in particolare inibendo l'attività chinasi di una delle chinasi coinvolte nell'attivazione del fattore stesso, IKK $\alpha$  (6). L'altro aspetto estremamente interessante è la capacità di NAPA di stimolare la produzione di Collagene tipo II, il collagene tipico della cartilagine, e di altri componenti della ECM sia in condrociti primari umani (Fig. 2), quindi in un modello *in vitro*, che in due modelli *in vivo* (7-9). I due modelli *in vivo* sono stati allestiti rispettivamente in coniglio e in topo, nel primo caso l'OA è stata indotta tramite somministrazione intrarticolare di vitamina A e nel secondo caso tramite Dislocazione Mediale del Menisco (DMM). Sia nei modelli *in vitro* che *in vivo* la riparazione tissutale è stata particolarmente evidente.



**Figure 2.** Immagini al microscopio elettronico a trasmissione (TEM). Condrociti primari umani non trattati (CTL) coltivati per 28 g, CTL coltivati per 28 g in presenza di 0.5 mM di NAPA.

In base a tutti i dati ottenuti sia negli esperimenti *in vivo* che *in vitro* l'idea è quella di procedere verso lo sviluppo di una formulazione del NAPA per la somministrazione intra-articolare ai fini del trattamento della OA.

L'abilità del NAPA di stimolare la sintesi dei componenti della matrice extracellulare nella cartilagine ci ha spinto a verificare se avesse efficacia anche sulla matrice della cute. In particolare, abbiamo verificato la capacità di stimolare la sintesi di Collagene tipo I nei fibroblasti (10), ottenuto esito positivo abbiamo preparato una crema base contenente NAPA al 1%. Abbiamo arruolato circa 30 soggetti sani e abbiamo chiesto loro di applicare la crema ogni giorno una volta al giorno nella zona perioculare sinistra, mentre nella zona perioculare destra veniva applicata la stessa crema base non contenente NAPA. Sono state effettuate foto con una particolare macchina fotografica, sia a T0, prima dell'applicazione, che a T30, dopo 30 giorni di applicazione. Nella gran parte dei soggetti analizzati, la zona perioculare sinistra mostrava una diminuzione della profondità delle rughe medie, mentre la situazione restava inalterata nella zona perioculare destra. Questo dato è molto promettente nell'ottica dello sviluppo di una crema anti-età ad uso cosmetico. In futuro pensiamo di verificare la sua efficacia anche nella riparazione di ferite.

1. doi: 10.1097/BOR.0000000000000353
2. doi: 10.1016/j.jare.2025.01.053
3. doi: 10.1186/s13075-022-02785-y
4. Giordano C et al. *Eur J Med Chem* (1991), 26: 753-762
5. doi: <http://arthritis-research.com/content/12/1/R18>
6. doi: 10.3390/ijms22041643
7. doi: 10.1016/j.joca.2014.09.005
8. doi: 10.1007/s00296-007-0463-x
9. doi: 10.1016/j.joca.2016.10.021
10. doi: 10.1111/php.13185



***POSTER***  
***GIOVANI RICERCATORI***

## **ADVANCES IN SENOLYTIC THERAPIES: PICEATANNOL IN COMBATING AGING**

***Alessia Ambrosino, Domenico Aprile, Nicola Alessio, Claudia Moriello, Giovanni Di Bernardo, Umberto Galderisi***

*Department of Experimental Medicine, Biotechnology and Molecular Biology Section, University of Campania “Luigi Vanvitelli”, Naples, Italy*

Aging is a multifaceted biological process characterized by the decline of physiological and cellular functions, driven in part by the accumulation of senescent cells and their negative effects. These nonproliferative cells remain metabolically active, secreting pro-inflammatory cytokines, chemokines, and growth factors collectively known as the senescence-associated secretory phenotype (SASP).

Targeting these cells through senotherapeutics, including senolytics and senomorphics, has been shown to mitigate age-related diseases and improve overall health. Piceatannol (PCT), a natural polyphenol found in foods like grapes and green tea, has gained attention for its senotherapeutic potential.

This research aims to evaluate the ability of PCT to mitigate radiation-induced aging in a murine model. Premature aging was induced by exposing C57BL/6J mice to 5 Gy of X-rays, followed by oral treatment with PCT or the reference senolytic ABT263 (navitoclax). Behavioral tests assessed motor coordination, short-term memory and strength. The mice were sacrificed 24 weeks after the last treatment, and serum analyses (ELISA and Western blot) were conducted to evaluate inflammation, and SASP factors. Various organs were preserved for further analysis. Gene expression was examined in different organs via RTqPCR, focusing on genes involved in senescence-related processes.

The comparison between control and irradiated mice demonstrated that irradiation successfully established a robust premature aging

model characterized by aging-related effects. Irradiated mice displayed notable decreases in motor coordination, strength, and short-term memory. Accelerated fur greying was evident in the irradiated mice, accompanied by a significant elevation in serum levels of the pro-inflammatory cytokines TNF- $\alpha$  and IL-6, as well as IGFBP-4, -5, and -7, which are key components of the SASP, when compared to the control group. In this model, the brain, heart, and kidney showed an increase in the expression of senescence-related genes, underscoring their susceptibility to irradiation induced aging. The therapeutic effects of PCT were evaluated using this aging model. PCT significantly improved motor and cognitive performance, with PCT-treated mice also maintaining coat colour similar to controls, indicating a protective effect against phenotypic aging. Serum analysis revealed a reduction in inflammatory markers and SASP-related proteins. Additionally, upregulation of senescence-related genes was observed in the brain, kidney, and heart of irradiated mice, highlighting the susceptibility of these organs to aging processes. Future analyses will focus on evaluating neurogenesis in the brains of irradiated mice, as well as in those treated with PCT (piceatannol-based senolytic therapy) and ABT263 (navitoclax), to assess potential differences and treatment effects on this critical regenerative process. In conclusion, the results indicate that a robust premature aging model was successfully created through radiation exposure, providing a reliable platform to evaluate anti-aging interventions. In this model, PCT treatment demonstrated its effectiveness in reducing inflammation, improving motor and cognitive performance. These findings highlight the potential of PCT as a promising candidate for anti-aging therapeutic strategies.

# POPS DETERMINATION IN SERUM AND SEMEN OF CONTAMINATED AREAS OF NORTHERN ITALY

***C.Fontanarosa<sup>1</sup>, M.Spinelli<sup>2</sup>, G.Battaglia<sup>1</sup>, A.Brandolini<sup>1</sup>,  
L.Crescenzi<sup>1</sup>, S.Lorenzetti<sup>3</sup>, F.Bertola<sup>4</sup>, A.Amoresano<sup>1</sup>***

*1 - University of Naples "Federico II", Department of Chemical Sciences Naples, Italy*

*2 - University of Campania L. Vanvitelli, Department of Physical and Mental Health and Preventive Medicine School of Medicine and Surgery, Naples, Italy*

*3 -Istituto Superiore Sanità*

*4 -ISDE Vicenza*

Contamination caused by anthropogenic activity is nowadays a field of increasing interest since old and new emerging pollutants, acting as endocrine disruptors, are responsible of many disorders such as cancers, neurological, metabolic and reproductive. This work aims at the determination of organic contaminants, persistently disseminated in the environment and in organisms and their relationship with the increasing infertility. Specifically, 478 serum and 456 semen samples were analyzed for the determination of ipa, pcb, dioxins bisphenols and metals. Samples were collected in northern Italy areas, in order to monitor the Ambiental contamination due to Miteni's activities. Metal analysis was performed by ICP-MS that allowed to examine 27 metals in traces and ultra traces, for each sample. ICP-MS investigation showed the presence of high levels of chromium and nickel in serum samples, while rubidium, strontium, lead and Barium were founded in semen. Quantitative analysis of IPA, PCB, Dioxins was performed by Tandem Mass Spectrometry in Multiple Reaction Monitoring, exploiting the high sensitivity, rapidity and selectivity of this technique. IPA and Bisphenol resulted to accumulate more in semen than in the serum while PCB were in higher concentrations in semen.

## **References**

- [1] Donato F, Rota M, Ceretti E, Viola GCV, Marullo M, Zani D, Amoresano A, Fontanarosa C, Spinelli M, Lorenzetti S, Montano L; FAST Study Group. Polychlorinated Biphenyls and Semen Quality in Healthy Young Men Living in a Contaminated Area. *Toxics*. 2023 Dec 20;12(1):6. doi: 10.3390/toxics12010006. PMID: 38276719; PMCID: PMC10820147.
- [2] Ahn C, Jeung EB. Endocrine-Disrupting Chemicals and Disease Endpoints. *Int J Mol Sci*. 2023 Mar 10;24(6):5342. doi: 10.3390/ijms24065342. PMID: 36982431; PMCID: PMC10049097.

\* Carolina Fontanarosa, carolina.fontanarosa@unina.it

# **METABOLIC SIGNATURES OF PROSTATE CANCER: LEVERAGING MULTI-OMICS TO UNVEIL NOVEL DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC BIOMARKERS**

*Andrea Cerrato*

*Università “Sapienza” Roma*

Prostate cancer (PC) affects approximately one in eight men during their lifetime and is the fifth leading cause of cancer-related death worldwide. Currently, early detection relies on measuring prostate-specific antigen (PSA) levels in blood and digital rectal examinations. However, PSA testing lacks sufficient sensitivity and specificity to distinguish benign conditions from clinically significant PC. Furthermore, recent research funded by Cancer Research UK indicates that PSA screening does not improve survival in asymptomatic men. Therefore, there is an urgent need to gather further information on the outbreak of PC and identify reliable, and possibly non-invasive, biomarkers. Metabolomics is a valuable tool for discovering disease-associated markers and can be used to understand altered metabolic pathways. In cancer research, metabolomics is especially valuable because tumor cells often undergo profound metabolic reprogramming to support rapid growth and survival. In this study, an untargeted multi-omics approach was set up to determine the role of acylcarnitine (ACs) and other polar metabolites in PC diagnosis and prognosis. ACs are a broad class of compounds that play an important role in the  $\beta$ -oxidation of fatty acids and have long been considered a pivotal mediator in cancer metabolic plasticity. First, cancer and adjacent non-malignant prostate tissue were analyzed by innovative analytical platforms based on high-resolution mass spectrometry. The statistical classification model produced promising results (with correct classification exceeding 93%), and subsequent univariate statistical analysis suggested the involvement of short-chain acylcarnitine  $\beta$ -oxidation processes associated with neoplastic transformation. Later, the

results obtained by the comparison of the tissues permitted further studies on biofluids. Moreover, the effect of radical prostatectomy on the metabolic profiles allowed the evaluation of the progression of PC over time by comparison of biofluids at the moment of the surgery and after 3-6 months. Diagnostic models showed exceptional accuracy (>99%) in distinguishing prostate cancer from BPH using plasma and urine metabolomics. Prognostic models also performed well, with classification rates around 98.5% for urine and 96.8% for plasma. These results suggest that tumor-related metabolic changes diminish significantly within 6 months after surgery, making post-operative metabolomic profiles similar to those of non-cancer controls. This study highlights the potential of metabolomics as a promising approach to improve the diagnosis and prognosis of prostate cancer. By integrating tissue and biofluid metabolomic profiling with a multi-omics strategy, new insights into the metabolic alterations associated with prostate cancer development and progression were provided.

This study was financed by Fondazione Umberto Veronesi - Post-doctoral fellowship 2024 “Ricerca di marcatori per diagnosi e prognosi del tumore prostatico”.

# PFAS IN LC-MS/MS: STUDIO DELLE PROPRIETÀ DI IONIZZAZIONE E OTTIMIZZAZIONE DELLE CONDIZIONI OPERATIVE TRAMITE APPROCCIO CHEMIOMETRICO INTEGRATO

*Rossana Comito<sup>1</sup>, Emanuele Porru<sup>1</sup>, Francesco Saverio Violante<sup>1,2</sup>*

*<sup>1</sup>Unità di Medicina Occupazionale, Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche, Alma Mater Studiorum- Università di Bologna*

*<sup>2</sup>Divisione di Medicina Occupazionale, IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna*

I PFAS (sostanze per- e polifluoroalchiliche) sono una vasta classe di composti chimici ampiamente utilizzati in numerosi processi industriali e prodotti di consumo. A causa della loro elevata stabilità chimica, i PFAS sono estremamente persistenti nell'ambiente e sono stati associati a effetti avversi sulla salute umana, tra cui alterazioni endocrine, epatotossicità e disfunzioni immunitarie[1].

In questo studio, sono state ottimizzate le condizioni cromatografiche per l'analisi di circa 30 PFAS definiti nella norma ISO 21675:2019, tramite l'impiego di un sistema di cromatografia liquida accoppiato ad uno spettrometro di massa con sorgente elettrospray e rivelatore a triplo quadrupolo (UHPLC-ESI-MS/MS). In particolare, è stato applicato un approccio chemiometrico integrato, utilizzando l'analisi delle componenti principali (PCA) per esplorare la variabilità e le correlazioni tra gli analiti e un disegno sperimentale D-optimal [2], che ha permesso la valutazione efficiente dell'effetto di più variabili operative e delle loro interazioni. L'effetto della fase cromatografica è stato esaminato mediante analisi multivariata, considerando in particolare l'influenza del pH, della forza ionica e della componente organica sulla risposta analitica. Come variabile di risposta è stato impiegato il rapporto tra l'area del picco (A) e la larghezza a metà

altezza (FWHM), al fine di ottimizzare sia la sensibilità che la forma del picco.

L'analisi combinata dello Score Plot e del Loading Plot ha evidenziato la presenza di tre gruppi distinti di PFAS, differenziabili in base alle loro proprietà chimico-fisiche e al comportamento cromatografico, confermando la complessità strutturale degli analiti considerati. L'interpretazione delle superfici di risposta e l'analisi della significatività statistica dei coefficienti di regressione hanno permesso di identificare le condizioni ottimali di analisi per ciascuno dei tre gruppi. In un'ottica di sviluppo di un metodo analitico integrato, è stato successivamente costruito un fronte di Pareto, utile per individuare le condizioni sperimentali più bilanciate che garantissero buone prestazioni per il maggior numero possibile di analiti. Le condizioni ottimali selezionate prevedono l'impiego di una fase mobile composta da ammonio acetato 20 mM in metanolo e una fase acquosa con ammonio acetato a 30 mM. Questa combinazione si è rivelata la più efficace nel bilanciare sensibilità, forma del picco e riproducibilità tra i PFAS analizzati. L'aumento della concentrazione del tampone nella fase acquosa ha determinato un miglioramento del rapporto segnale-rumore (S/N) per la maggior parte degli analiti, senza alterare in modo significativo il rapporto A/FWHM.

A oggi, non risultano in letteratura studi che abbiano utilizzato un disegno sperimentale multivariato completo per valutare le interazioni tra le variabili nella fase di ionizzazione. I risultati ottenuti costituiscono quindi una base solida per la futura ottimizzazione dell'estrazione e dell'intero protocollo analitico per l'analisi dei PFAS in matrici biologiche.

### **Bibliografia**

1. Comito, R.; Porru, E.; Violante, F.S. *Analytical Methods Employed in the Identification and Quantification of Per- and Polyfluoroalkyl Substances in Human Matrices - A Scoping Review. Chemosphere* **2023**, *345*
2. *Encyclopedia of Analytical Chemistry: Applications, Theory and Instrumentation*; Meyers, R.A., Ed.; Wiley: Chichester, 2000; ISBN 978-0-470-02731-8.

# TARGETING ADIPOSE-DERIVED STEM CELL FATE THROUGH METFORMIN– VITAMIN D CROSSTALK

***Sara Cruciani, Giuseppe Garroni, Diletta Serra, Margherita Maioli***  
*Department of Biomedical Sciences, University of Sassari, Viale San Pietro 43/B, 07100, Sassari, Italy*  
*e-mail: sara.cruciani@outlook.com; Phone: +39 3488943815*

Adipose-derived stem cells (ADSCs), abundant in fat tissue, possess high regenerative potential and the ability to differentiate into multiple phenotypes under defined stimuli. Their adipogenic differentiation is governed by a complex transcriptional and epigenetic network, whose dysregulation is associated with chronic inflammation, obesity, and related metabolic disorders.

Understanding these mechanisms is critical for developing targeted therapeutic strategies. In the present study, we investigated the effects of metformin and vitamin D—individually and in combination—on ADSC differentiation, focusing on their ability to inhibit adipogenesis, promote a beige adipocyte phenotype, and modulate inflammation and autophagy. ADSCs were cultured in adipogenic conditioned medium for 21 days with metformin and/or vitamin D. We assessed key adipogenic and thermogenic markers (aP2, LPL, ACOT2, UCP1, TMEM26), metabolic regulators (PARP1, CYP27B1, CYP3A4), and markers of inflammation (IL-6, TNF- $\alpha$ ), autophagy (ATG12, LC3B I/II), and stress response (FoxO1, HSPs). Epigenetic modulators and specific miRNAs were also analyzed. Furthermore, the lack of knowledge of the mechanism of action of drugs hampers the development of new therapies. Additionally, molecular dynamics (MD) simulations were used to explore metformin's interactions with cellular targets, providing insight into its mechanism of action. Our findings reveal that metformin and vitamin D act synergistically to

counteract adipogenesis, reducing inflammation, enhancing autophagy, and promoting a thermogenic phenotype. These results support their potential as therapeutic agents in obesity management and open new perspectives for drug development targeting metabolic disorders.

*Cruciani S et al. Int J Mol Sci. 2021 Jun 22;22(13):6686. doi: 10.3390/ijms22136686.*

*Cruciani S et al. Int J Mol Sci. 2020 Aug 27;21(17):6181. doi: 10.3390/ijms21176181.*

*Cruciani S et al. Adipocyte. 2022 Dec;11(1):356-365. doi: 10.1080/21623945.2022.2085417.*

# STRATEGIE TERAPEUTICHE CON MRNA PER MIGLIORARE L'OUTCOME EPATICO DELLA MASH

Silvia Cultrera\*<sup>1</sup>, Angela F. Tricase\*<sup>1</sup>, Maria Arconzo<sup>1</sup>, Marica Cariello<sup>1</sup>, Raffaella M. Gadaleta<sup>1</sup>, Marilina Florio<sup>1</sup>, Elena Piccinin<sup>2</sup>, Antonio Moschetta<sup>1,3</sup>

*\*autori che hanno contribuito in equal modo*

<sup>1</sup> *Dipartimento Interdisciplinare di Medicina (DIM), Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Bari, Italia*

<sup>2</sup> *Dipartimento di Biomedicina Traslazionale e Neuroscienze (DiBraiN), Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Bari, Italia*

<sup>3</sup> *INBB, Istituto Nazionale Biostrutture e Biosistemi Consorzio Interuniversitario, Roma, Italia*

**Introduzione ed obiettivi:** La steatoepatite associata a disfunzione metabolica (MASH) è una patologia epatica in crescente diffusione, caratterizzata da accumulo lipidico, infiammazione e fibrosi, il cui sviluppo dipende dalla disfunzione mitocondriale e dallo stress ossidativo. PGC1 $\beta$  (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Coactivator 1 beta) è un coattivatore trascrizionale che, a livello epatico, regola la biogenesi mitocondriale, il metabolismo ossidativo, la lipogenesi e la secrezione di trigliceridi. Studi preclinici indicano che l'overespressione epatica di PGC1 $\beta$  esercita un effetto protettivo nei confronti della MASH. Alla luce dei recenti successi dei vaccini a mRNA, questo progetto ha l'obiettivo di valutare l'efficacia terapeutica di una strategia basata su mRNA codificante per PGC1 $\beta$  veicolato da liponanoparticelle (LNP-mRNA PGC1 $\beta$ ) per il trattamento della MASH, al fine di migliorarne gli esiti epatici ed evitarne la progressione.

**Metodi:** È stata generata una sequenza ottimizzata di mRNA codificante per PGC1 $\beta$ . La sua funzionalità è stata verificata *in vitro*

tramite analisi di espressione genica in cellule Hepa 1-6 transfettate. La formulazione lipidica delle LNP è stata progettata per favorire la localizzazione epatica. Per studiarne il tropismo, LNP marcate con fluoroforo sono state somministrate a topi wild type C57BL6/J. L'efficacia terapeutica sarà valutata in un modello murino di MASH indotto da dieta ricca in grassi e acqua zuccherata per 4 mesi, mediante somministrazioni ripetute di LNP-mRNA PGC1 $\beta$ .

**Risultati:** Lo studio *in vitro* ha confermato la funzionalità dell'mRNA custom di PGC1 $\beta$  nel dare una proteina funzionante ed è stata osservata la sua stabilità nel tempo (72h). La composizione lipidica selezionata ha garantito un marcato tropismo epatico. Inoltre, nello studio di biodistribuzione è stato osservato che la presenza di tali LNP in altri organi è nulla (cervello) o molto limitata (rene, dovuta principalmente a processi escretori).

**Conclusioni e prospettive future:** Il sistema LNP-mRNA PGC1 $\beta$  messo a punto si è dimostrato tecnicamente valido per l'obiettivo del progetto. Sono in corso le analisi sull'efficacia terapeutica nel modello murino di MASH, i cui risultati forniranno indicazioni cruciali per un potenziale sviluppo traslazionale.

# **IMPATTO SULLA SALUTE METABOLICA E CARDIOVASCOLARE DELL'ADERENZA ALLA DIETA MEDITERRANEA E DELLA CRONO- NUTRIZIONE**

*Carlo De Matteis*

*Università degli Studi di Bari*

L'obesità addominale, caratterizzata da un eccessivo accumulo di grasso attorno agli organi addominali, è uno dei principali fattori determinanti della Sindrome Metabolica (MetS) ed è fortemente associata a un aumentato rischio di malattie cardiovascolari, diabete di tipo II e neoplasie. Di conseguenza, l'identificazione di strategie di stile di vita efficaci per mitigare l'obesità addominale, in particolare attraverso interventi dietetici, rappresenta una priorità critica di sanità pubblica. In tale scenario, la Dieta Mediterranea (MD) è globalmente riconosciuta come un modello alimentare cardine associato a numerosi benefici per la salute. Caratterizzata da un elevato consumo di frutta, verdura, legumi, cereali integrali, frutta secca, pesce, olio extravergine di oliva (EVOO), con un moderato apporto di pollame e un basso consumo di carni rosse/processate e dolci, la MD ha dimostrato efficacia nel migliorare le componenti della MetS.

Per consolidare il significativo ruolo benefico della MedDiet e dei suoi componenti chiave sulla salute globale, il nostro gruppo di ricerca ha validato il Chrono Med Diet Score (CMDS), un questionario di facile utilizzo che considera le abitudini di vita e un moderno approccio crono-nutrizionale, oltre alle informazioni sul consumo alimentare. Il CMDS è composto da undici categorie alimentari e tiene conto di fattori non precedentemente considerati negli *scores* di aderenza alla MD, come categorie separate tra cereali e farinacee, l'orario di assunzione dei prodotti farinacei stessi e dell'attività fisica.

Le fonti di grassi all'interno dell'alimentazione quotidiana sono differenziate, con l'EVOO separato rispetto a burro o margarina.

Nel primo studio di validazione (*De Matteis et al., Nutrients, 2023*), abbiamo verificato la capacità predittiva in termini di aderenza alla MD confrontandolo con altri noti *scores* presenti in letteratura in una coorte di 300 soggetti metabolici. Valori di CMDS superiori a 13 identificano correttamente l'aderenza alla MD (Sensibilità 76%, Specificità 82%). Nondimeno, abbiamo evidenziato come valori di CMDS  $\leq 13$  siano inoltre associati a diverse condizioni, tra cui abbiamo evidenziato l'obesità addominale e l'aumentato rischio cardiovascolare, contrariamente a quanto fatto dagli altri *scores* analizzati.

In un secondo studio (*De Matteis et al., Nutrients, 2024*), abbiamo seguito per più di 5 anni una differente coorte composta da 401 pazienti metabolici, con anamnesi negativa per neoplasie. Un totale di 40 soggetti ha sviluppato, nel periodo di follow-up, neoplasie del tratto gastrointestinale (GI). Abbiamo evidenziato come il CMDS fosse significativamente ridotto nei soggetti con diagnosi di neoplasie del tratto GI e che, in particolare, i pazienti che riportavano un punteggio CMDS  $\leq 12$  presentavano un rischio aumentato di oltre tre volte di diagnosi di cancro GI, peraltro mostrando un aumento della circonferenza addominale e dei trigliceridi, e una riduzione del colesterolo HDL, rispetto ai soggetti con elevata aderenza.

Considerati i risultati più che significativi, con l'obiettivo di rendere disponibile il CMDS alla platea più vasta possibile, da aprile 2023 è online il portale [www.chronomeddiet.org](http://www.chronomeddiet.org) che consente di calcolare il proprio score e di fornire i propri riferimenti antropometrici, generando indicazioni terapeutiche personalizzate. Dagli input raccolti, più di 20mila in due anni, sono partiti due nuovi progetti, attualmente in revisione su riviste internazionali. Il primo ha avuto come obiettivo la validazione su vasta scala delle abitudini alimentari, con il riscontro di legumi e attività fisica come fattori che, all'interno del CMDS, incidono maggiormente sullo sviluppo di obesità

addominale. Il secondo progetto ha come focus l'EVOO e le sue capacità benefiche nella prevenzione dell'obesità, caratterizzandolo come fattore indipendente, persino rispetto all'aderenza globale alla MD, per lo sviluppo di una condizione che rappresenta la vera pandemia dei giorni nostri.

# LIVELLI DI ESPRESSIONE GENICA DI PPARA, PPARG, ATGL, SIRT3, PGC-1A, FAP E CORRELAZIONE CON I LIVELLI CIRCOLANTI DI FGF21

*Marilina Florio*  
*Univ. Bari*

**Introduzione:** FGF21 è un fattore di crescita fibroblastico prodotto principalmente a livello epatico che agisce come messaggero endocrino su differenti organi bersaglio. FGF21 esercita la sua funzione endocrina legandosi al recettore FGFR1c in associazione al co-recettore  $\beta$ -Klotho (KLB), la cui espressione è limitata a tessuti metabolicamente attivi, quali fegato, tessuto adiposo, pancreas, muscolo e cuore. È coinvolto nella regolazione del metabolismo energetico e nell'adattamento a condizioni di stress metabolico come digiuno prolungato, esposizione al freddo, eccessiva assunzione di carboidrati e carenza proteica. Sebbene numerosi studi abbiano osservato aumentati livelli sierici di FGF21 in condizioni patologiche come obesità, diabete di tipo 2, steatosi epatica e sindrome metabolica, non è ancora chiaro se tale aumento rappresenti un meccanismo compensatorio protettivo o un indice di resistenza all'azione dell'ormone. Inoltre, FGF21 è soggetto a inattivazione da parte della proteina FAP, una proteasi appartenente alla famiglia delle dipeptidil-peptidasi IV (DPP-IV), che ne cliva l'estremità C-terminale, riducendone l'attività biologica. La distinzione tra forma totale e forma intatta (attiva) di FGF21 risulta pertanto cruciale per comprendere appieno il ruolo di tale ormone nelle disfunzioni metaboliche. A tal proposito, in un nostro precedente studio osservazionale è emerso che, sebbene i livelli di FGF21 totale siano associati positivamente al girovita e inversamente ai livelli di HDL e vitamina D, la sua forma intatta non mostra correlazioni significative

con tali parametri, suggerendo una ridotta quota di ormone attivo nelle condizioni dismetaboliche. Pertanto, è stato ipotizzato che l'azione della FAP sia responsabile del clivaggio inattivante dell'FGF21 (1).

**Obiettivi del progetto:** L'attività di ricerca attualmente in corso è volta ad indagare i meccanismi molecolari alla base della ridotta quota circolante della forma attiva di FGF21 nei soggetti con alterazioni metaboliche, attraverso l'analisi dell'espressione genica di potenziali regolatori epatici e adiposi, con particolare attenzione a PPAR $\alpha$ , PPAR $\gamma$ , ATGL, SIRT3 e PGC-1 $\alpha$  e a valutare contestualmente l'attività e l'espressione di FAP come responsabile del clivaggio inattivante di FGF21.

**Metodologia:** Lo studio osservazionale prevede l'analisi di campioni biologici (siero e PBMCs) provenienti da una coorte selezionata di soggetti adulti dismetabolici. I campioni biologici saranno ottenuti da pazienti ambulatoriali già inclusi in precedenti studi o reclutati ex novo. I livelli sierici di FGF21 totale e della sua forma attiva saranno quantificati mediante saggi ELISA, calcolando il rapporto FGF21 attivo/totale. L'RNA totale sarà estratto da PBMCs precedentemente isolate dagli stessi soggetti per l'analisi dell'espressione genica di PPAR $\alpha$ , PPAR $\gamma$ , ATGL, SIRT3, PGC-1 $\alpha$  e FAP mediante qPCR. L'attività sierica della FAP sarà valutata tramite saggio fluorimetrico. Verranno successivamente effettuate analisi statistiche che includeranno confronti tra gruppi, correlazioni tra espressione genica e livelli di FGF21 attivo/totale, e modelli multivariati per identificare i determinanti molecolari della ridotta quota di ormone attivo nei soggetti dismetabolici.

**Risultati attesi:** Nei soggetti dismetabolici si prevede di osservare una significativa riduzione del rapporto FGF21 attivo/totale, associata a un'aumentata espressione genica e/o attività sierica della FAP, suggerendo un ruolo diretto di quest'ultima nel clivaggio inattivante dell'ormone. Inoltre, si prevede che i pazienti con profilo molecolare caratterizzato da ridotta espressione di PPAR $\alpha$ , PPAR $\gamma$ , ATGL, SIRT3 e PGC-1 $\alpha$  mostrino una minore disponibilità o sensibilità a

FGF21 attivo. L'analisi multivariata dovrebbe consentire l'identificazione di determinanti molecolari indipendenti associati alla quota attiva di FGF21.

**Prospettive future:** I risultati dello studio potranno contribuire a chiarire i meccanismi molecolari alla base della ridotta efficacia del FGF21 nei pazienti dismetabolici, aprendo la strada a nuovi approcci diagnostici e terapeutici. In particolare, FAP potrebbe emergere come potenziale target farmacologico per preservare la forma attiva di FGF21 e ripristinarne l'efficacia metabolica. Inoltre, il profilo di espressione genica identificato potrebbe essere utile per selezionare i pazienti più responsivi a future terapie basate su FGF21 o analoghi.

*(Ref. 1) Total serum FGF-21 levels positively relate to visceral adiposity differently from its functional intact form, Lucilla Crudele<sup>1</sup>, Oihane Garcia-Irigoyen<sup>1,2</sup>, Marica Cariello<sup>1</sup>, Marildia Piglionica<sup>1</sup>, Natasha Scialpi<sup>1</sup>, Marilina Florio<sup>1</sup>, Giuseppina Piazzolla<sup>1</sup>, Patrizia Suppressa<sup>1</sup>, Carlo Sabbà<sup>1</sup>, Raffaella Maria Gadaleta<sup>1</sup> and Antonio Moschetta<sup>1,3</sup>*

# MCF-7-CONDITIONED MEDIUM INFLUENCES THE DIFFERENTIATION POTENTIAL AND MIRNA PROFILE IN hADSCS

Garroni Giuseppe<sup>1</sup>, Cruciani Sara<sup>1</sup>, Serra Diletta<sup>1</sup>, Maioli Margherita<sup>1,2</sup>

*1 Department of Biomedical Sciences, University of Sassari, Viale San Pietro 43/B, 07100 Sassari, Italy*

*2 Center for Developmental Biology and Reprogramming—CEDEBIOR, Department of Biomedical Sciences, University of Sassari, Viale San Pietro 43/B, 07100 Sassari, Italy*

Human adipose-derived stem cells (hADSCs) are widely used in regenerative medicine due to their ability to differentiate into various cell lines as well as self-renew. However, the behavior and final fate of hADSCs are significantly influenced by the extracellular environment.

In this study, we observed the effect of an exhausted medium derived from MCF-7 mammary cancer cell line cultured for 4, 7 and 10 days on the differentiation potential and epigenetic pattern of hADSCs.

Treatment with the exhausted medium led to a remarkable reduction of the expression of specific

genes involved in adipogenic (PPAR- $\gamma$ , LPL, ACOT2, aP2) and osteogenic (RUNX2, BMP2, OCN, ALP) differentiation. This was confirmed by colorimetric assay using oil red and alizarin red, where there was reduced lipid and calcium deposition.

Additionally, miRNA expression profiling showed a significant upregulation of miR-145 and miR-185, and a downregulation of miR-148a, suggesting the possible maintenance of a proliferative and undifferentiated state in hADSCs under pathological-like conditions.

Our results suggest that factors secreted by cancer cells could impair the stem cells differentiation, triggering a potentially proliferative-risk phenotype.

# HUMAN INTESTINAL ORGANOIDS TO UNVEIL THE TOXICITY INDUCED BY BPA, PFOA AND THEIR COMBINATION AND THE MITIGATION EFFECTS INDUCED BY PROBIOTICS

***Christian Giommi***<sup>1,2</sup>, ***Mònica Diaz***<sup>3,4</sup>, ***Marta Lombò***<sup>1,2,5</sup>, ***Chiara Santoni***<sup>1</sup>, ***Fiorenza Sella***<sup>1,2</sup>, ***Jasin Taelman***<sup>3,4</sup>, ***Elisabetta Giorgini***<sup>1</sup>, ***Jordi Guiu***<sup>3,4</sup>, ***Oliana Carnevali***<sup>1,2</sup>

*1 Dipartimento Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università Politecnica delle Marche, Via Brecce*

*Bianche, 60131 Ancona, Italy*

*2 INBB - Consorzio Interuniversitario di Biosistemi e Biostrutture, 00136 Roma, Italy*

*3 Cell Plasticity and Regeneration Group, Regenerative Medicine Program, Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge-IDIBELL, L'Hospitalet de Llobregat, Spain.*

*4 Program for advancing the Clinical Translation of Regenerative Medicine of Catalonia, P-CMR[C], L'Hospitalet de Llobregat, Spain.*

*5 Department of Molecular Biology, Faculty of Biology and Environmental Sciences, Universidad de León, 24071 León, Spain*

*e-mail: c.giommi@staff.univpm.it*

Endocrine Disrupting Chemicals (EDCs) are environmental contaminants that pose serious risks to biological systems, causing intestinal damage and dysbiosis. Due to these harmful effects, concerns about human and wildlife exposure are increasing. The strategies applied so far have focused on replacing banned EDCs with alternative chemicals, although these substitutes often exhibit similar or even greater toxicity.

Previous studies evidenced the ability of probiotics to counteract EDC-induced toxicity, as demonstrated at the intestinal level in *Danio rerio*. In the present study we used human intestinal organoids to assess the intestinal toxicity of the plasticizer bisphenol A (BPA), the flame retardant perfluorooctanoic acid (PFOA), and their

combination. Additionally, the study examined the mitigating effects of the probiotic formulation, SLAB51, against these contaminants.

Preliminary results based on morphometric analysis evidenced that 0.56 pM, 56 pM, and 56 μM of BPA, as well as 0.96 pM, 96 pM, and 96 μM of PFOA, were the most detrimental doses.

Concomitantly, 10<sup>6</sup> CFU SLAB51 displayed relevant mitigating effects against 56 pM BPA and 96 pM PFOA morphometric alterations, and restored organoid size even in the presence of both contaminants

To further explore the mitigating action of SLAB51, Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) was used to analyze the macromolecular composition of the organoids. Both EDCs and their combination increased saturated fatty acids. PFOA and BPA+PFOA increased lipid peroxidation, indicating higher oxidative stress. PFOA also reduced total DNA content, suggesting a cell cycle alteration. By wholemound immunostaining the integrity of the intestinal barrier was studied. BPA induced a severe reduction in E-Cadherin levels, indicating the disruption of the intestinal barrier.

Notably, co-administration of BPA+ SLAB51 reversed these effects.

These findings evidenced for the first time that beneficial bacteria can mitigate EDCs-induced toxicity in human intestinal organoids.

# **TECNOLOGIA INNOVATIVA PER LA CONTEMPORANEA SEPARAZIONE, CONCENTRAZIONE E CARATTERIZZAZIONE DI VESCICOLE EXTRACELLULARI DA INTERE COLTURE CELLULARI SENZA PRETRATTAMENTO**

***Stefano Giordani***

*Dipartimento di Chimica "G. Ciamician", Università di Bologna, Bologna  
By Flow Srl, Bologna*

La tecnica di frazionamento in campo-flusso asimmetrico accoppiata a rivelazione multidimensionale (AF4-MD) si distingue nel panorama delle tecniche separative per la sua capacità intrinseca di offrire un'analisi "soft", automatizzabile e adatta a un'ampia gamma di campioni biologici complessi. Essa consente di ridurre al minimo i passaggi di pretrattamento, ottenere una caratterizzazione multiparametrica delle componenti isolate e produrre frazioni semplificate del campione, utili in moderne applicazioni diagnostiche, come la biopsia liquida. Tuttavia, una delle principali limitazioni, comune anche ad approcci alternativi, riguarda la notevole diluizione degli analiti di interesse (ad esempio le vescicole extracellulari, EV) nelle frazioni raccolte. Questo impone lunghi e complessi processi di riconcentrazione, spesso non automatizzabili, per consentire analisi successive. In questo contesto, presentiamo una tecnologia AF4 ottimizzata per l'isolamento diretto delle vescicole extracellulari (EV) da terreno di coltura condizionato. Il prototipo elimina completamente la necessità di pretrattamenti e consente di ottenere frazioni sufficientemente concentrate, pronte per essere utilizzate direttamente. Il cuore dell'apparecchiatura è un sistema d'iniezione ad alto volume, combinato con un processo di riconcentrazione integrato nel canale separativo stesso. Questa configurazione ha permesso di separare

efficacemente, in un singolo passaggio, le sottopopolazioni di EV da proteine libere e detriti cellulari presenti nel campione. Allo stesso tempo, riduce in modo significativo la diluizione del campione, superando una delle principali limitazioni della tecnica convenzionale. La caratterizzazione tramite scattering statico e dinamico della luce (MALS e DLS) ha dimostrato l'integrità strutturale delle EV isolate. L'analisi mediante Western blot ha inoltre evidenziato un significativo arricchimento dei principali marcatori esosomiali (CD9, CD81, Alix, Flotillin), con una distinta distribuzione tra le diverse frazioni raccolte in base alla dimensione. Questo pacchetto tecnologico, composto dal sistema di iniezione e dal metodo analitico, è compatibile con la strumentazione AF4 attualmente in commercio e abilita un'analisi semplificata delle EV. Lo sviluppo in corso rappresenta un upgrade significativo e con rilevante interesse commerciale, promuovendo la creazione di nuove piattaforme diagnostiche innovative e con alto potenziale di valorizzazione brevettuale.

Finanziato dall'Unione Europea – Next Generation EU, PRIN 2022 progetto RESOLVE No 202233FTW8 - CUP B53D23013360006.

## DEVELOPMENT OF AN LC-MS/MRM METHOD FOR THE SPECIATION OF A BLOOD TRACE

***A. Illiano*<sup>\*1,2</sup>, *G. Pinto*<sup>1,2</sup>, *C. Vocca*<sup>1,2</sup>, *A. Marzano*<sup>1,2</sup>, *F. Arioli*<sup>3</sup>, *D. Vigo*<sup>3</sup>, *R. Risoluti*<sup>4</sup>, *S. Materazzi*<sup>4</sup> and *Angela Amoresano*<sup>1,2</sup>**

1. Department of Chemical Sciences, University of Naples Federico II, 80126, Naples, Italy.

2. National Institute of Biostructures and Biosystems Interuniversity Consortium, 00136 Rome, Italy.

3. Department of Veterinary Medicine and Animal Sciences, University of Milan, 26900 Lodi, Italy.

4- Department of Chemistry, University of Rome "La Sapienza", 00185 Rome

Forensic Science applies principles, methods, and techniques from traditional sciences to reconstruct events at crime scenes and offer important legal insights. In addition, Forensic Chemistry focuses on chemical analysis, utilizing both qualitative and quantitative methods to examine evidence and traces collected from crime scenes<sup>1</sup>. Biological fluids, particularly blood traces, are among the most significant evidence found at a crime scene. Analyzing biofluids can yield valuable insights, such as: (1) identifying the type of biological fluid through presumptive and confirmatory tests (like chemiluminescence tests<sup>1</sup> or microcrystal formation assays<sup>2</sup>), which often lead to false positives and false negatives, and (2) determining its origin through confirmatory tests (for example, immunochromatographic tests<sup>3</sup>) that are not always conducted under the assumption that the stains discovered are of human origin. Understanding the nature of the biofluid found at a crime scene can provide insights into the dynamics of the events. Additionally, biofluid speciation can help eliminate misleading hypotheses<sup>4</sup>. Furthermore, biofluid speciation has broad applications, including in food fraud cases where species are misrepresented on labels<sup>5</sup>. To overcome the limitations of the tests used the main objective of this project is to develop a targeted method based on Mass Spectrometry (MS) in a Multiple Reaction Monitoring mode (MRM) combined with

Liquid Chromatography (LC-MS/MS) to identify proteotypic proteins as species-specific markers in a targeted approach. To this aim, preliminary analyses were performed on several blood samples using a shotgun bottom-up proteomics approach to identify specific biofluid markers. Preliminary untargeted analysis led to the election of hemoglobin as the protein target of the blood for which an MRM method was developed. The MRM method was optimized on blood samples for the selection of hemoglobin peptides unique to the 7 species involved in this project: *Homo sapiens*, *Bos taurus*, *Canis lupus familiaris*, *Equus caballus*, *Felis catus*, *Gallus gallus* and *Sus scrofa*, monitoring the two subunits of hemoglobin, the alpha chain and beta chain for a total of 14 proteins, 32 peptides and 296 transitions. The selection of specific peptides resulted in a final MRM method including 13 proteins (7 alpha-hemoglobin and 6 beta-hemoglobin), 28 peptides, and 257 transitions. Sample analysis with the developed method allowed the speciation of blood samples of unknown origin with high selectivity and sensitivity. The developed procedure could be applied as an analytical method for real samples collected by judicial authorities in forensic cases. In the agri-food sector, the developed method can be used to unmask the substitution of declared species with one of lesser value. Finally, due to the high sensitivity and specificity of the method, this could also be used to detect the presence of animal protein in declared animal-free products.

### References

- [1] F. Barni, S.W. Lewis, A. Berti, G.M. Miskelly, G. Lago. *Talanta*, **72**, Issue 3 (2007) 896-913.
- [2] K. Virkler, I.K. Lednev. *Forensic Science International*, **188** (2009) 1-7
- [3] I. Horjan, L. Barbaric, G. Mrsic. *J. Forensic and Legal Medicine*, **38** (2016) 101-105
- [4] K.C. Doty, I.K. Lednev. *Forensic Science International*, **282** (2018) 204–210
- [5] M. Valletta, S. Ragucci, N. Landi, A. Di Maro, P.V. Pedone, R. Russo, A. Chambery. *Food Chemistry*, **365** (2021) 130456

# DRUG REPOSITIONING DELLA N-ACETILGLUCOSAMMINA IN NANOPARTICELLE: UN APPROCCIO INNOVATIVO PER PATOLOGIE INFIAMMATORIE E VIRALI

***Alessia Mariano***<sup>1\*</sup>, ***Sergio Ammendola***<sup>2</sup>, ***Anna Scotto d'Abusco***<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Dipartimento di Scienze Biochimiche, Sapienza Università di Roma, Italia*

<sup>2</sup> *Ambiotec di Sergio Ammendola, Cisterna di Latina (LT), Italia*

[\\*alessia.mariano@uniroma1.it](mailto:alessia.mariano@uniroma1.it)

L'Osteoartrite (OA) è una malattia cronica e degenerativa che colpisce le articolazioni causando perdita della cartilagine articolare. Si tratta di una patologia molto diffusa nel mondo, per la quale non esiste ancora un rimedio definitivo. Negli ultimi anni sono state identificate molecole condroprotettive in grado di prevenire la degradazione della cartilagine e di stimolarne la riparazione, tra cui la N-acetilglucosammina (NAG), molto efficace ma con scarse proprietà farmacocinetiche. Per ottenere un effetto terapeutico, infatti, i pazienti devono assumerne dosi elevate e più volte al giorno, riducendo così l'aderenza alla terapia.

Per aumentare le proprietà terapeutiche della NAG, nel nostro laboratorio è stata sviluppata una formulazione in nanoparticelle con lo scopo di aumentarne la biodisponibilità. Le nanoparticelle sono state ottenute utilizzando un planetary ball mill, uno strumento che, attraverso la rotazione e l'impatto della polvere grezza con sfere di materiale inerte, frantuma le particelle fino a raggiungere dimensioni nanometriche. L'effetto anti-OA della formulazione in nanoparticelle è stato validato e confrontato con quello della formulazione in forma bulk su colture cellulari di condrociti umani primari, isolati dalla cartilagine articolare di pazienti OA sottoposti a intervento di artroprotesi. Trattando le cellule con entrambe le formulazioni, è stato osservato che le nanoparticelle esercitano un effetto

antinfiammatorio a concentrazioni molto più basse rispetto alla forma bulk, fino a 0.5  $\mu\text{M}$  (1).

Considerando questi risultati promettenti e basandosi sull'approccio del drug repositioning, che prevede l'utilizzo di farmaci già in uso per nuove applicazioni terapeutiche, la NAG in nanoparticelle, valido rimedio anti-OA, è stata testata anche contro infezioni virali respiratorie. L'efficacia antivirale è stata valutata contro il virus dell'Influenza A H1/N1 in cellule MDCK e contro l'Adenovirus di tipo 2 in cellule A549. In entrambi i casi, la formulazione in nanoparticelle si è rivelata molto più efficace e a concentrazioni più basse rispetto alla forma bulk. In particolare, nell'infezione da Adenovirus di tipo 2, la forma bulk è risultata inefficace, mentre le nanoparticelle di NAG a 0.125 mM hanno ridotto del 50% la percentuale di cellule infette. Inoltre, considerando che l'infiammazione gioca un ruolo cruciale nelle infezioni virali respiratorie, è stato valutato anche l'effetto antinfiammatorio delle due formulazioni. Anche in questo caso, la formulazione in nanoparticelle è risultata più efficace nel ridurre l'espressione delle citochine pro-infiammatorie, e a concentrazioni inferiori rispetto alla forma bulk (2).

### **References**

1. *Mariano, A.; et al. The Formulation of the N-Acetylglucosamine as Nanoparticles Increases Its Anti- Inflammatory Activities: An In Vitro Study. Bioengineering. 2023 Mar 9;10(3):343. 39. doi: 10.3390/bioengineering10030343*
2. *Marchetti, M.; ...; Mariano, A.; et al. In Vitro Antiviral and Anti-Inflammatory Activities of N-Acetylglucosamine: Development of an Alternative and Safe Approach to Fight Viral Respiratory Infections. Int J Mol Sci. 2023 Mar 7;24(6):5129. doi: 10.3390/ijms24065129*

# TARGETING SENESCENT MESENCHYMAL STROMAL CELLS: SRC KINASE INHIBITORS AS PROMISING SENOTHERAPEUTIC AGENT

***Claudia Moriello<sup>1</sup>, D. Aprile<sup>1</sup>, N. Alessio<sup>1</sup>, G. Di Bernardo<sup>1</sup>, U. Galderisi<sup>1,2,3</sup>***

*1 Department of Experimental Medicine, Biotechnology, and Molecular Biology Section, Luigi Vanvitelli Campania University, 80138 Naples, Italy;*

*2 Department of Biology, Faculty of Science, Erciyes University, Kayseri, Turkey*

*3 Sbarro Health Research Organization, Temple University, Philadelphia, PA 19122, USA*

Mesenchymal stromal cells (MSCs) are a heterogeneous population of cells present in the bone marrow, adipose tissue, and stroma of various organs and tissues. They play a crucial role in supporting hematopoiesis, maintaining tissue homeostasis and modulating inflammation. MSC senescence can have significant negative consequences for human health, as the reduced ability of adult stem cells to regenerate and replicate is one of the main causes of aging. An emerging class of drugs, called "senotherapeutics", includes: Senomorphics, which modulate the function of senescent cells and Senolytics, which selectively eliminate senescent cells by exploiting their resistance to apoptosis. SRC kinase has been identified as a key protein contributing to apoptosis resistance in senescent cells. Therefore, SRC protein inhibitors represent potential effective senotherapeutics to promote the removal of senescent cells. Our study focuses on four specific compounds (Apigenin, Chlorogenic Acid, Formononetin, Daidzein and Icariin) previously identified as inhibitors of the SRC protein, aiming to elucidate their impact on senescent MSCs. Our findings reveal that these compounds effectively induce selective programmed cell death in senescent MSCs. In our in vitro model, we observed a clear inhibition of SRC protein phosphorylation, as demonstrated by western blot analysis. This

molecular event correlated with selective cell death in senescent MSCs, confirmed through both flow cytometry and immunocytochemistry. Furthermore, treatment with some of these compounds led to a marked increase in reactive oxygen species (ROS), suggesting the involvement of complex redox-dependent signaling pathways in mediating their senotherapeutic activity. In summary, our study highlights the potential of these compounds as promising senotherapeutic agents for selectively targeting senescent cells. This finding represents a significant advancement in developing strategies to promote healthy aging and overall well-being in later life.

# MUSE STEM CELLS AS A NEW IN VITRO CELLULAR MODEL TO STUDY MOOD AND PSYCHOTIC DISORDERS

***Deanira Patrone, Domenico Aprile, Nicola Alessio, Giovanni Di Bernardo, Umberto Galderisi***

*Department of Experimental Medicine, Biotechnology, and Molecular Biology Section, Luigi Vanvitelli Campania University, 80138 Naples, Italy;*

Psychotic and mood disorders, including schizophrenia (SCZ) and bipolar disorder (BD), are complex neurodevelopmental conditions marked by synaptic dysfunctions, aberrant neurogenesis, and gene–environment interactions. Studying these disorders remains challenging due to the inaccessibility of live brain tissue and the limitations of currently available *in vitro* models. To overcome these barriers, we explored the use of MUSE (Multilineage-differentiating Stress-Enduring) cells as a new *in vitro* model system to study disease-related neuronal alterations. Muse cells are endogenous pluripotentlike stem cells, non-tumorigenic, identifiable by SSEA-3 positivity, capable of spontaneous differentiation into cell types from all three germ layers and uniquely resistant to cellular stress. These characteristics have also made Muse cells a promising candidate in clinical research: notably, a recent clinical trial demonstrated their safety and potential efficacy in the treatment of ischemic stroke, further supporting their translational relevance in regenerative medicine. This study aims to establish Muse cells as a physiologically relevant and scalable platform to investigate disease-specific cellular mechanisms in Deficit schizophrenia (SCZ) and Rapid cycling bipolar disorder (BD) and to reveal neurodevelopmental impairments at both the stem and progenitor stages of differentiation. This multicentric study involves six recruitment centres distributed across the Italian territory, collectively enrolling over 100 male participants. Muse cells were isolated from dermal stromal tissue using minimally invasive 1.5

mm punch biopsies from healthy controls and diagnosed SCZ and BD patients. Cells were selected via magnetic-activated cell sorting (MACS) based on SSEA-3 expression and assessed for stemness (OCT3/4, SOX2, NANOG), proliferation (cell cycle), apoptosis (Annexin-V), and senescence ( $\beta$ -galactosidase). Neural induction protocols developed in-house allowed the stepwise differentiation of Muse cells through neural progenitor stages into GABAergic and glutamatergic neurons, enabling the tracking of functional and morphological changes throughout the entire neurodevelopmental trajectory. Gene and protein expression analyses were performed via RT-PCR and immunofluorescence, respectively. Group comparisons employed one-way ANOVA.

Results demonstrated that MUSE cells derived from SCZ and BD patients exhibited significantly lower stemness marker expression ( $p < 0.05$ ), reduced S-phase representation, and higher apoptosis, indicating compromised regenerative potential. Furthermore, analysis of neural progenitor intermediates uncovered disease-specific deficits in early neurogenic commitment. Final-stage neurons showed altered morphology and reduced expression of MAP2 (neuronal marker), GAD1/2 (GABAergic), and DAT (dopaminergic). These findings support the validity of MUSE cells as a biologically relevant and robust model for investigating molecular and cellular mechanisms underlying psychotic and mood disorders. Despite limitations such as sample size and inter-individual variability, this model offers an accessible and physiologically sound alternative to current stem cell-based platforms. In conclusion, MUSE cells stand out as an innovative and promising in vitro model with the potential to transform neuropsychiatric research and therapy development.

## RILASCIO DI ORMONI GASTROINTESTINALI COME STRATEGIA PROMETTENTE PER I DISTURBI METABOLICI

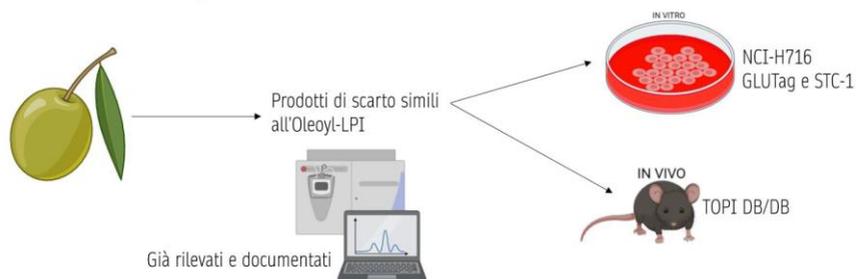
***Federico Piccinini, Valeria Naponelli, Marco Falasca***

*Università di Parma, Dipartimento di Medicina e Chirurgia, Via  
Volturno 39, 43125 Parma, Italia*

La crescente incidenza globale di diabete di tipo 2 (T2D) e obesità ha incentivato lo sviluppo di terapie innovative volte a modulare la secrezione di incretine, come il glucagon-like peptide-1 (GLP-1), un ormone prodotto dalle cellule enteroendocrine L, localizzate principalmente nell'ileo e nel colon, e coinvolte nella regolazione del metabolismo glucidico. In risposta all'assunzione di nutrienti, queste cellule secernono il GLP-1, che potenzia la secrezione di insulina dalle cellule  $\beta$  pancreatiche in maniera glucosio-dipendente, rallenta lo svuotamento gastrico e riduce l'appetito<sup>1</sup>. Un'altra incretina importante è il GIP (glucose-dependent insulintropic polypeptide), prodotta dalle cellule K del duodeno e del digiuno, anch'essa dotata di attività insulintropica<sup>1</sup>. L'oleoyl-lysophosphatidylinositol (oleoyl-LPI) è un lipide alimentare derivato dalla digestione del fosfatidilinositolo da parte delle fosfolipasi pancreatiche, ed è stato identificato come un potente agonista endogeno del recettore GPR119, un recettore accoppiato a proteine G di classe A espresso principalmente nelle cellule L intestinali e nelle cellule  $\beta$  pancreatiche<sup>2-3</sup>. L'oleoyl-LPI stimola la secrezione di GLP-1 attraverso l'attivazione del recettore GPR119, aumentando i livelli intracellulari di cAMP, e ha dimostrato efficacia sia *in vitro* (GLUTag, STC-1, NCI-H716) sia *in vivo* (topi db/db)<sup>2-4</sup>. Il nostro gruppo di ricerca ha sviluppato e testato analoghi sintetici dell'oleoyl-LPI, come ps297 e ps318, in grado di indurre la secrezione di GLP-1 in maniera efficiente e localizzata<sup>3</sup>. Questi composti, caratterizzati da scarsa biodisponibilità sistemica, agiscono in modo intestino-specifico, limitando gli effetti collaterali tipici degli agonisti GLP-1 sistemici, come la semaglutide,

spesso associata a nausea e disturbi gastrointestinali<sup>4</sup>. Inoltre, la co-somministrazione con inibitori della dipeptidil-peptidasi IV (DPP-IV) come il sitagliptin ha mostrato un effetto sinergico (aumentando ulteriormente) sui livelli plasmatici di GLP-1 nei modelli murini diabetici poiché la DPP-IV attiva degrada rapidamente il GLP-1<sup>4-5</sup>. Il presente progetto di ricerca mira a esplorare il potenziale terapeutico dei composti bioattivi contenuti nella sansa dell'olio di oliva, un sottoprodotto ricco di lipidi strutturalmente simili all'oleoyl-LPI. L'approccio prevede studi *in vitro* su linee cellulari enteroendocrine umane e murine (GLUTag, NCI-H716, STC-1), per valutare l'attivazione di GPR119 attraverso la quantificazione dei livelli di cAMP (ELISA) e la conseguente secrezione di GLP-1. Inoltre, verranno utilizzate cellule pancreatiche INS1E per testare la secrezione insulinica, considerando che GPR119 è espresso anche nelle cellule  $\beta$  del pancreas<sup>2</sup>. Gli studi *in vivo* prevedono l'impiego di modelli murini db/db per effettuare test di tolleranza al glucosio orale, attraverso la determinazione dell'effetto della sansa sulla glicemia, sui livelli plasmatici di GLP-1 e insulina. Saranno inoltre effettuati test di svuotamento gastrico mediante una miscela a base di carbone e uno studio di somministrazione cronica della sansa per monitorare variazioni nel peso corporeo, nell'assunzione di cibo e nei livelli di ormoni gastrointestinali. Parallelamente, saranno condotti studi di sicurezza farmacologica (profilo ADME) e, in un modello di dieta ad alto contenuto lipidico (high-fat diet), sarà indagato il potenziale trasferimento del microbiota intestinale verso altri distretti (es. fegato), in presenza o meno di oleoyl-LPI. Quest'ultimo punto è un aspetto importante da valutare poiché è stato dimostrato in studi recenti, che alterazioni della barriera intestinale possono facilitare la traslocazione batterica, influenzando profondamente la funzione epatica e contribuendo alla progressione di patologie metaboliche e infiammatorie, come la steatosi epatica non alcolica e la cirrosi epatica<sup>6</sup>. La connessione intestino-fegato, mediata dalla vena porta, rappresenta un asse fisiopatologico chiave, in cui il microbiota intestinale e i suoi metaboliti giocano un ruolo regolatorio e potenzialmente terapeutico. In conclusione, questo progetto di ricerca si fonda su solide evidenze

scientifiche che identificano GPR119 come bersaglio molecolare strategico per indurre la secrezione endogena e fisiologica di incretine, come GLP-1, senza gli effetti negativi dei farmaci agonisti del GLP-1 iniettabili attualmente in uso. L'utilizzo di derivati naturali, come quelli contenuti nella sansa dell'olio di oliva, offre una prospettiva innovativa verso nuove terapie orali, sicure, efficaci e sostenibili per il trattamento del diabete di tipo due e dell'obesità.



### Bibliografia

- 1) Paternoster S and Falasca M (2018) Dissecting the Physiology and Pathophysiology of Glucagon-Like Peptide-1. *Front. Endocrinol.* 9:584. doi: 10.3389/fendo.2018.00584
- 2) Arifin SA, Paternoster S, Carlessi R, Casari I, Ekberg JH, Maffucci T, Newsholme P, Rosenkilde MM, Falasca M. Oleoyl-lysophosphatidylinositol enhances glucagon-like peptide-1 secretion from enteroendocrine L-cells through GPR119. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids.* 2018 Sep;1863(9):1132-1141. doi: 10.1016/j.bbali.2018.06.007.
- 3) Paternoster S, Simpson PV, Kokh E, Kizilkaya HS, Rosenkilde MM, Mancera RL, Keating DJ, Massi M, Falasca M. Pharmacological and structure-activity relationship studies of oleoyl-lysophosphatidylinositol synthetic mimetics. *Pharmacol Res.* 2021 Oct;172:105822. doi: 10.1016/j.phrs.2021.105822.
- 4) Patil M, Casari I, Thapa D, Warne LN, Dallerba E, Massi M, Carlessi R, Falasca M. Preclinical pharmacokinetics, pharmacodynamics, and toxicity of novel small-molecule GPR119 agonists to treat type-2 diabetes and obesity. *Biomed Pharmacother.* 2024 Aug;177:117077. doi: 10.1016/j.biopha.2024.117077.
- 5) Patil M, Thapa D, Warne LN, Lareu RR, Dallerba E, Lian J, Massi M, Carlessi R, Falasca M. Chronic metabolic effects of novel gut-oriented small-molecule GPR119 agonists in diet-induced obese mice. *Biomed Pharmacother.* 2024 Dec;181:117675. doi: 10.1016/j.biopha.2024.117675.
- 6) Albillos A, de Gottardi A, Rescigno M. The gut-liver axis in liver disease: Pathophysiological basis for therapy. *J Hepatol.* 2020 Mar;72(3):558-577. doi: 10.1016/j.jhep.2019.10.003.

**Funder:** Project funded under the National Recovery and Resilience Plan (NRRP), Mission 4, Component 2, Investment 1.5 – Cascade Call related to the Program “Innovation, digitalisation and sustainability for the diffused economy in Central Italy – Vitality – Spoke 10” funded by the European Union – NextGenerationEU.

**Award Number:** Cascade Call related to the Program “Innovation, digitalisation and sustainability for the diffused economy in Central Italy – Vitality – Spoke 10” ECS 00000041, CUP J33C22002850006.



# DETECTING MILK ADULTERATION IN DAIRY PRODUCTS USING MALDI-TOF MASS SPECTROMETRY

***Gabriella Pinto***<sup>1,2\*</sup>, ***Anna Illiano***<sup>1,2</sup>, ***Adriana Marzano***<sup>1,2</sup>, ***Carlotta Vocca***<sup>1,2</sup>, ***Simonetta Caira***<sup>3</sup>, ***Francesco Addeo***<sup>4</sup>, ***Angela Amoresano***<sup>1,2</sup>

1 – Department of Chemical Sciences, University of Naples Federico II, 80126, Naples, Italy.

2 – Istituto Nazionale Biostrutture e Biosistemi - Consorzio Interuniversitario, 00165 Roma

3 – Proteomics, Metabolomics & Mass Spectrometry Laboratory, Institute for the Animal Production System in the Mediterranean Environment, National Research Council, 80055 Portici, Italy.

4 – Department of Agriculture, University of Naples “Federico II”, 80055 Portici, Italy

Food fraud, including the adulteration or misrepresentation of food and water products, remains a critical issue with implications for both public health and consumer protection. In Italy, the first laws addressing product quality emerged in the late 19th century, with subsequent legislation specifically targeting food fraud. Today, food fraud is classified into two categories: health fraud—where alterations pose risks to consumer safety—and commercial fraud, which involves misleading claims about a product’s origin, composition, or quality.

Analytical techniques play a pivotal role in preventing food fraud by verifying product authenticity and ensuring safety, particularly in products with quality labels such as Protected Designation of Origin (PDO) or Protected Geographical Indication (PGI). Dairy products are especially vulnerable to adulteration practices such as dilution with water or skimmed milk and substitution with cheaper milk from undeclared animal species. The "Mozzarella di Bufala Campana" case has exemplified the need for rigorous monitoring of high-value dairy products. IEF techniques is widely employed to investigate milk origins, often in conjunction with other methods such as HPLC [1, 2].

In recent years, Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization - Time-Of-Flight (MALDI-TOF) mass spectrometry has proven to be a useful technique for studying the authenticity of dairy products, offering molecular fingerprinting with fast, reproducible, and reliable results [3-5].

The current study explores the use of MALDI-TOF mass spectrometry for detecting milk adulteration through molecular fingerprinting. This technique, offering speed, reproducibility, and minimal sample preparation, enables the identification of species-specific casein proteotypic peptides in milk from buffalo, cow, goat, and sheep. Calibration curves were developed using mixed milk samples to quantify adulteration levels, and several commercial cheeses were analyzed to assess compliance with labeling declarations.

Results demonstrate that MALDI-TOF is a powerful tool for identifying and quantifying undeclared milk sources in dairy products. Its efficiency, reliability, and ease of use make it highly suitable for routine food authenticity testing and regulatory enforcement.

Keywords: food fraud, dairy products, mass spectrometry

\* Corresponding author: Gabriella Pinto, [gabriella.pinto@unina.it](mailto:gabriella.pinto@unina.it)

### References

- [1] *Official Gazette of the Republic of Italy* 11 June 1996. *Off. J. Ital. Rep.* 135: 12.
- [2]. *Official Gazette of the Republic of Italy* 17 April 2003. *Off. J. Ital. Rep.* 90: 9
- [3] Cuollo, M., Caira, S., Fierro, O., Pinto, G., Picariello, G., & Addeo, F. (2010). Toward milk speciation through the monitoring of casein proteotypic peptides. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 24(11), 1687–1696.
- [4] de Pascale, S., Garro, G., Pellicano, S. I., Scaloni, A., Carpino, S., Caira, S., & Addeo, F. (2025). Integrated Gel Electrophoresis and Mass Spectrometry Approach for Detecting and Quantifying Extraneous Milk in Protected Designation of Origin Buffalo Mozzarella Cheese. *Foods*, 14(7).
- [5] della Cerra, F., Esposito, M., Caira, S., Scaloni, A., & Addeo, F. (2025). Challenges in Using the Official Italian Method to Detect Bovine Whey Proteins in Protected Designation of Origin Buffalo Mozzarella: A Proteomic Approach to Face Observed Limits. *Foods*, 14(5).

# **HOLLOW-FIBER FLOW FIELD-FLOW FRACTIONATION AS AN ADVANCED APPROACH FOR EXTRACELLULAR VESICLE ISOLATION AND PROFILING**

***Anna Placci***

*Department of Chemistry “G. Ciamician”, University of Bologna, Bologna*

Extracellular vesicles (EVs) are nanosized particles secreted by cells, playing a key role in intracellular communication and disease progression, thereby emerging as promising biomarkers and therapeutic tools. However, their clinical and research applications are still limited by challenges in isolation and characterization due to their high heterogeneity and low abundance in biological fluids. Traditional isolation methods, such as ultracentrifugation, size-exclusion chromatography (SEC), and ultrafiltration, although widely used, may compromise EV structure and consequently their biological activity, preventing a native characterization. Hollow-Fiber Flow Field-Flow Fractionation (HF5) is a soft separation technique that has shown great potential in the isolation of EVs from serum [1]. It can be coupled with several detectors, like spectroscopic, light scattering and fluorescence to assess EVs content and size. In this study EVs from healthy donors'and patients' plasma samples were isolated and collected using both a common SEC protocol and the optimized HF5 separation system. The collected EVs were concentrated through an ultrafiltration step and then re-analysed with the HF5-Multidetector platform, obtaining a direct comparison of relative size distribution and amount between the two separation techniques. The presence of vesicles in the fractions was confirmed with Western Blot and Flow Cytometry, which allowed EVs marker profiling. The results show that while both techniques yield EV populations positive for canonical markers (CD9, CD81, ALIX) and platelet-associated proteins (CD41a,

CD42b), HF5 provided superior control over aggregation and sample integrity. Moreover, HF5 enabled online, native characterization of vesicles with minimal sample manipulation. These findings support HF5 not only as a viable alternative to SEC for EV isolation, facilitating their downstream molecular analysis, but also as a powerful analytical platform for their native and multiparametric characterization. The method's ability to preserve vesicle integrity and assess heterogeneity makes it a valuable tool in the study of circulating EVs in both physiological and pathological contexts.

## **ACKNOWLEDGMENTS**

Financed by the European Union – NextGeneration EU through the Italian Ministry of University and Research under PRIN 2022 RESOLVE, 202233FTW8 CUP B53D23013360006

[1] Marassi, V.; Giordani, S.; Placci, A.; Punzo, A.; Caliceti, C.; Zattoni, A.; Reschiglian, P.; Roda, B.; Roda, A. *Sensors*, 2023, 23 (23), 9432, <https://doi.org/10.3390/s2323943>

# CAMPIONAMENTO LACRIMALE E QUANTIFICAZIONE ASSOLUTA DELLE PROTEINE TRAMITE STRISCIA DI SCHIRMER E SPETTROMETRIA DI MASSA

E. Porru<sup>1</sup>, R. Comito<sup>2</sup>, G. Astolfi<sup>3</sup>, P. Versura<sup>3</sup>, J. Fiori<sup>4</sup>, F.S. Violante<sup>1,2</sup>

(1) *Unità di Medicina del Lavoro, Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche, Alma Mater Studiorum – Università di Bologna, 40138 Bologna, Italia*

(2) *U.O. Medicina del Lavoro, IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna, 40138 Bologna, Italia*

(3) *U.O. Oftalmologia, DIMEC, Alma Mater Studiorum – Università di Bologna, 40138 Bologna, Italia*

(4) *Dipartimento di Chimica “Giacomo Ciamician”, Università di Bologna, 40126 Bologna, Italia*

**Email** emanuele.porru2@unibo.it

Il fluido lacrimale rappresenta una fonte sempre più promettente di biomarcatori per patologie oculari e sistemiche, grazie alla raccolta non invasiva e alla sua stretta connessione con la fisiologia della superficie oculare [1,2]. Tuttavia, l'impiego clinico è ancora limitato dall'assenza di protocolli standardizzati per il campionamento, l'estrazione e la quantificazione, soprattutto considerando la complessità del proteoma lacrimale. Questo studio propone un flusso di lavoro validato e riproducibile per la quantificazione assoluta di tre proteine lacrimali chiave — albumina, lattoferrina e lisozima — mediante cromatografia liquida ultra-performante accoppiata a spettrometria di massa tandem. Un elemento innovativo è l'utilizzo ottimizzato delle strisce di Schirmer, tradizionalmente impiegate per la valutazione del volume lacrimale, qui rivalutate come dispositivi

efficaci e standardizzati per il campionamento proteico. Il metodo impiega analoghi proteici non umani come standard interni per correggere le variazioni nell'efficienza di estrazione e nel volume campionato, garantendo robustezza e affidabilità. I recuperi proteici sono risultati compresi tra l'84% e il 95%, con accuratezza e precisione entro  $\pm 5\%$  di bias e  $< 5\%$  di CV. I limiti di rilevazione sono stati di 1 ng/mL per l'albumina, 0,1 ng/mL per la lattoferrina e 0,5 ng/mL per il lisozima. Applicato a campioni clinici, il metodo ha evidenziato variabilità interindividuale mantenendo un'eccellente riproducibilità, confermandone l'idoneità per studi su larga scala. Questo protocollo rappresenta un avanzamento significativo nel campo della proteomica lacrimale, consentendo un'analisi sensibile, quantitativa e ripetibile delle proteine da campioni minimamente invasivi. L'uso innovativo delle strisce di Schirmer come strumenti di raccolta proteica apre nuove prospettive per l'integrazione dei biomarcatori lacrimali nella diagnostica e nella medicina personalizzata.

#### ***Riferimenti***

- [1] Winiarczyk, M. et al., *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2022, 19, 13341.  
[2] Pieragostino, D. et al., *Proteomics Clin. Appl.* 2015, 9(1–2), 169–186.

# DA SEGNALE LUMINOSO A EFFETTO BIOLOGICO: METODOLOGIE LUMINESCENTI INNOVATIVE E PREDITTIVE PER L'ANALISI DI BIOMARCATORI UMANI IN CORSO DI VOLO SPAZIALE

***Angela Punzo***<sup>1,2\*</sup>, ***Anna Placci***<sup>2,3\*</sup>, ***Alessia Silla***<sup>1,2</sup>, ***Luisa S. Dolci***<sup>2,4</sup>,  
***Simone Cavalera***<sup>2,5</sup>, ***Laura Anfossi***<sup>2,5</sup>, ***Valentina Marassi***<sup>2,3,6</sup>, ***Andrea  
Zattoni***<sup>2,3,6</sup>, ***Pierluigi Reschiglian***<sup>2,3,6</sup>, ***Cristiana Caliceti***<sup>1,2</sup>, ***Aldo  
Roda***<sup>2,3</sup>, ***Barbara Roda***<sup>2,3,6</sup>.

<sup>1</sup>*Dipartimento di Scienze Biomediche e Neuromotorie, Università di Bologna, Bologna.*

<sup>2</sup>*Istituto Nazionale Biostrutture e Biosistemi (INBB), Roma.*

<sup>3</sup>*Dipartimento di Chimica “G.Ciamician”, Università di Bologna, Bologna.*

<sup>4</sup>*Dipartimento di Chimica Industriale “Toso Montanari”, Università di Bologna, Bologna.*

<sup>5</sup>*Dipartimento di Chimica, Università di Torino, Torino.*

<sup>6</sup>*byFlow s.r.l., Bologna.*

*\* Questi autori hanno contribuito equamente al lavoro.*

Durante le missioni spaziali di lunga durata, gli astronauti sono esposti a una combinazione di fattori di stress ambientale, come microgravità, isolamento, alterazione dei ritmi circadiani e radiazioni, che possono influenzare profondamente l'equilibrio endocrino, cardiovascolare e immunitario. In questo contesto, il monitoraggio in tempo reale di biomarcatori chiave come cortisolo, indicatore di stress fisiologico, e troponina cardiaca, marcatore precoce di danno miocardico, assume un ruolo cruciale per la prevenzione di patologie e l'ottimizzazione delle contromisure mediche a bordo.

Le nanoparticelle di platino (PtNPs) stanno emergendo come promettenti nanoenzimi per catalizzare reazioni chemiluminescenti (CL), offrendo una potenziale alternativa ai classici sistemi enzimatici, come la perossidasi di rafano (HRP).

La loro intrinseca attività simil-perossidasi, unita ad un'elevata stabilità ed efficienza catalitica, può migliorare sensibilmente le prestazioni analitiche in diverse applicazioni. L'integrazione delle PtNPs in piattaforme immunoenzimatiche a flusso laterale (LFIA), tradizionalmente basate su rivelazione colorimetrica, rappresenta quindi un'opportunità per potenziare significativamente la sensibilità diagnostica.

Nonostante questi vantaggi, l'uso delle PtNPs nella rivelazione CL presenta alcune criticità. Una delle principali limitazioni è la carenza di substrati chemiluminescenti appositamente ottimizzati per le PtNPs. Il sistema luminolo- $H_2O_2$ , comunemente utilizzato, genera spesso segnali estremamente rapidi e intensi quando catalizzato dalle PtNPs, con emissioni luminose di durata molto breve, difficili da rilevare e quantificare. Inoltre, la risposta CL risulta fortemente influenzata da fattori quali dimensione, morfologia e funzionalizzazione superficiale delle nanoparticelle. In particolare, la coniugazione con anticorpi, necessaria per l'integrazione nei sistemi LFIA, può influire in modo significativo sull'intensità e sulla cinetica del segnale. Pertanto, garantire l'uniformità delle PtNPs è essenziale per ottenere segnali stabili e riproducibili, consentendo l'ottimizzazione affidabile delle condizioni di reazione ed evitando fenomeni di cinetica flash.

Questo lavoro si concentra sull'ottimizzazione della composizione del substrato e della concentrazione di PtNPs al fine di ottenere un segnale chemiluminescente stabile e misurabile. Grazie alle loro proprietà catalitiche uniche, le PtNPs rappresentano un'alternativa promettente e innovativa agli enzimi tradizionali nei sistemi CL-LFIA. Una tale piattaforma potrebbe costituire uno strumento diagnostico sensibile, portatile e robusto, adatto ad applicazioni point-

of-care nel campo della rilevazione di biomarcatori di stress cardiaco in ambienti estremi come lo spazio.

**Ringraziamenti:**

Questo studio è stato supportato dal progetto ASI - GRAVI-CUORE (Biosensore multiparametrico per il monitoraggio di marcatori salivari di danno cardiaco in corso di volo umano spaziale).

# DYNAMIC CO-CULTURE SYSTEM ENHANCED COLLAGEN DEPOSITION DURING TISSUE REPAIR INDUCED BY HYDROLATE OF HELICHRYSUM ITALICUM

Diletta Serra<sup>1</sup>, Sara Cruciani<sup>1</sup>, Giuseppe Garroni<sup>1</sup>, Margherita Maioli<sup>1,2</sup>

*1*Department of Biomedical Sciences, University of Sassari, Viale San Pietro 43/B, 07100 Sassari, Italy

*2* Center for Developmental Biology and Reprogramming -CEDEBIOR, Department of Biomedical Sciences, University of Sassari, Viale San Pietro 43/B, 07100 Sassari, Italy

Natural compounds are increasingly recognized for their regenerative properties and low toxicity i skin repair. In this study, we investigated the therapeutic potential of a waste-derived hydrolate from *Helichrysum italicum* (*HH*), a plant widely used in traditional Mediterranean medicine for its pharmacological effects. *HH* was evaluated using a dynamic culture system designed to replicate physiological interactions between skin stem cells (SSCs) and human dermal fibroblasts (HFF1), closely mimicking the architecture and signaling environment of human skin. Following mechanical injury induced by a scratch assay, both cell types were exposed to two different concentrations of *HH* for 48 hours and compared to untreated controls. Collagen type I deposition was quantitatively and qualitatively assessed by confocal microscopy under both static and dynamic conditions, revealing increased matrix remodeling under dynamic culture. Additionally, gene expression analysis revealed that *HH* treatment induced upregulation of stemness-associated markers in SSCs, suggesting the activation of regenerative signaling pathways. Overall, our results support the potential use of *HH* as a bioactive compound in advanced wound care and highlight the relevance of dynamic *in vitro* models for investigating skin regeneration mechanisms.

# DUAL HRMS-BASED UNTARGETED ANALYTICAL PLATFORMS FOR IN-DEPTH INVESTIGATION OF POLAR LIPIDOME AND BIOACTIVE PEPTIDES IN ALGAE: A STEP TOWARD SUSTAINABLE BLUE ECONOMY

***E. Taglioni<sup>1</sup>, A. Laganà<sup>1</sup>, C. Lammi<sup>2</sup>, A. L. Capriotti<sup>1</sup>***

*1 Department of Chemistry, Sapienza University of Rome, Piazzale Aldo Moro 5, 00185 Rome, Italy*

*2 Department of Pharmaceutical Sciences, University of Milan, Via Mangiagalli 25, 20133 Milan, Italy*

Seaweeds are macrophytic algae that have been gaining interest as alternative healthy foods, nutraceuticals, and climate change mitigation agents. Seaweeds are marine resources with significant potential to fulfill the purpose of the Sustainable Blue Economy and the Bio-Based Circular Economy. However, uncontrolled growth of seaweeds in certain areas, leading to algal blooms, affect human health and produce substantial environmental and economic impacts [1]. Implementing coordinated efforts to collect and repurpose invasive seaweeds could help mitigate eutrophication by lowering the sea's nutrient concentrations and the nitrogen-to-phosphorus ratio. Such strategies align with the European Union's waste legislation (Regulation 2008/98/EC), prioritizing recycling as a sustainable intervention. Instead of being either composted or used to produce biofuels [2] the biomass deriving from seaweeds is gaining attention because of its nutritional value due to its high content of several bioactive compounds [3]. It is well-recognized that such aquatic organisms represent a valuable source of omega-3 ( $\omega$ 3) such as eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA), and polyunsaturated fatty acids (PUFAs). However, little is known about the regiochemistry of free and conjugated fatty acids in seaweeds. Moreover, algal protein hydrolysates represent a valuable source of

short- and medium-chain peptides with multifunctional properties [3]. In the present work [4], a detailed characterization of polar lipid and peptide content was achieved by untargeted HRMS-based analysis. Concerning peptides, the purified short-chain fraction was analyzed through a suspect screening untargeted metabolomics approach, integrating ultra-high-performance LC with HRMS and bioinformatics, specifically tailored for identifying short-chain peptides. Meanwhile, the medium-chain fraction was analyzed using nanoLC-MS/MS. Biological activity evaluations demonstrated that short-chain peptides exhibited higher antioxidant potential and superior ACE inhibitory activity, whereas medium-chain peptides showed enhanced DPP-IV inhibition, highlighting their potential antidiabetic effects. The ACE and DPP-IV inhibitory activities were tested both in vitro and in situ using Caco-2 cells. Simultaneously, lipids were analyzed by HRMS in their native form and following aza-Paternò-Büchi (aPB) derivatization reaction using 6-azauracil (6-AU) for the determination of carbon-carbon double bonds in fatty acyl chains using higher collisional dissociation in the negative ion mode. Finally, a triple-data processing strategy was carried out to achieve high structural detail on the polar lipidome from 8 seaweed species from different seaweed families, and information on the regiochemistry of carbon-carbon double bonds uncovered unknown peculiarities of seaweeds belonging to different families. Open access funding provided by University of Rome La Sapienza within the CRUI-CARE Agreement. The work was supported by the PRIN2022 PNRR project Prot. P2022PTYWP, entitled “Design of high-pRofit foStErIng bioActive coMpounds through integral valorization of seaWEEDs infesting the MEditerranean sea (DreamWEEDme),” provided by the Italian Ministry of Universities and Research.

#### References

- [1] Armeli Minicante, S. et al., *Sustainability* (2022), 10.3390/su14095634
- [2] Alam, S. N. et al., *Environmental Sustainability* (2021), 10.1007/s42398-021-00178-6.
- [3] Garcia-Perez P., et al., *Food Chemistry* (2023), 10.1016/j.foodchem.2022.135295
- [4] Montone, C. M. et al., *Anal. Bioanal. Chem.* (2024), 10.1007/s00216-024-05573-6

# **PRESENZA ED EFFETTI DI INQUINANTI AMBIENTALI SULLO SVILUPPO EMBRIONALE DI *Caretta caretta* NEL MAR MEDITERRANEO**

***Erica Trotta***

*Università Politecnica delle Marche, 60131, Ancona, Italia*

Il Mar Mediterraneo, riconosciuto come uno dei mari più ricchi di biodiversità ma anche più vulnerabili al mondo, è sempre più soggetto a pressioni antropiche che mettono a rischio la sopravvivenza delle specie marine. Inquinamento, cambiamenti climatici, urbanizzazione costiera e traffico marittimo contribuiscono all'accumulo di sostanze inquinanti persistenti che si diffondono attraverso la rete trofica, incidendo negativamente sulla salute degli organismi marini. Tra le specie maggiormente esposte a queste minacce la tartaruga marina comune (*Caretta caretta*), la più abbondante nel Mediterraneo, è considerata una specie sentinella e bioindicatore ufficiale del Descrittore 10 “Rifiuti Marini” della Direttiva Quadro Europea sulla Strategia Marina (MSFD), per la sua capacità di riflettere lo stato ambientale degli ecosistemi marini [1]. Nel corso del suo ciclo vitale, che comprende l'utilizzo di diversi habitat marini e costieri, *C. caretta* è esposta a una vasta gamma di contaminanti ambientali, tra cui microplastiche (MPs), metalli pesanti (HMs), inquinanti organici persistenti (POPs) e ftalati [2–5]. Tali sostanze possono bioaccumularsi nei tessuti e interferire con processi fisiologici chiave, compromettendo la crescita, lo sviluppo e la capacità riproduttiva degli individui, con potenziali effetti a livello di popolazione [6]. Questo studio si propone di analizzare la presenza e gli effetti di microplastiche e idrocarburi policiclici aromatici (PAHs) in embrioni di *C. caretta* non schiusi, raccolti in due importanti aree di nidificazione del Mediterraneo, il mar Ionio ed il mar Tirreno. L'obiettivo principale è la valutazione dell'esposizione a

contaminanti, e l'effetto di questi ultimi sullo sviluppo embrionale tramite l'identificazione di particolari biomarker di stress e di esposizione ai contaminati esaminati. L'approccio multidisciplinare adottato, che integra analisi morfologiche, fisiologiche, istologiche e tossicologiche, ha permesso di caratterizzare in modo approfondito la risposta biologica agli stress ambientali. I risultati ottenuti hanno evidenziato una maggiore incidenza di arresto precoce dello sviluppo embrionale e una riduzione dei parametri biometrici negli embrioni provenienti dal Mar Ionio. Nei 27 embrioni all'ultimo stadio di sviluppo campionati, le microplastiche sono state rilevate nei tessuti epatici. Non sono state riscontrate differenze significative tra i due siti di campionamento, ma è stata identificata una correlazione positivamente significativa tra la loro abbondanza e la presenza di melanomacrofagi, particolari macrofagi selezionati come biomarcatori di stress. Le analisi immunoistochimiche e cromatografiche (HPLC) hanno confermato l'espressione dell'enzima CYP1A1, coinvolto nella risposta detossificante, e la presenza di PAHs, sia a livello epatico che del tuorlo, indicando non solo un probabile trasferimento materno dei contaminanti alle uova tramite la sintesi di tuorlo, ma anche il loro assorbimento e accumulo nel fegato dell'embrione in via di sviluppo. L'integrazione di questi dati consente non solo di valutare gli impatti sub-letali dello stress ambientale sugli embrioni di *C. caretta*, ma anche di proporre un set di biomarcatori come strumenti standardizzati per il monitoraggio ecotossicologico a livello regionale. La definizione di un protocollo armonizzato, basato su biomarcatori affidabili e applicabili in diversi contesti geografici, rappresenta un passo fondamentale per migliorare la valutazione dei rischi ambientali nel Mediterraneo e per supportare strategie di conservazione basate su dati scientifici solidi. Tali strumenti si rivelano essenziali per una gestione efficace degli ecosistemi marini e per la salvaguardia delle specie minacciate in un contesto di crescente pressione antropica e cambiamento globale.

### References:

1. Matiddi, M.; Hochscheid, S.; Camedda, A.; Bains, M.; Cocumelli, C.; Serena, F.; Tomassetti, P.; Travaglini, A.; Marra, S.; Campani, T.; et al. Loggerhead Sea Turtles (Caretta Caretta): A Target Species for Monitoring Litter Ingested by Marine Organisms in the Mediterranean Sea. *Environmental Pollution* 2017, 230, 199–209, doi:10.1016/J.ENVPOL.2017.06.054.
2. Chemello, G.; Trotta, E.; Notarstefano, V.; Papetti, L.; Di Renzo, L.; Matiddi, M.; Silvestri, C.; Carnevali, O.; Gioacchini, G. Microplastics Evidence in Yolk and Liver of Loggerhead Sea Turtles (Caretta Caretta), a Pilot Study. *Environmental Pollution* 2023, 337, 122589, doi:10.1016/J.ENVPOL.2023.122589.
3. Savoca, D.; Arculeo, M.; Vecchioni, L.; Cambera, I.; Visconti, G.; Melfi, R.; Arizza, V.; Palumbo Piccionello, A.; Buscemi, S.; Pace, A. Can Phthalates Move into the Eggs of the Loggerhead Sea Turtle Caretta Caretta? The Case of the Nests on the Linosa Island in the Mediterranean Sea. *Mar Pollut Bull* 2021, 168, 112395, doi:10.1016/J.MARPOLBUL.2021.112395.
4. Kaska, Y.; Furness, R.W. Heavy Metals in Marine Turtle Eggs and Hatchlings in the Mediterranean. *Zool Middle East* 2001, 24, 127–132, doi:10.1080/09397140.2001.10637891.
5. Dias, M.; Johnson, M.E.; Oshiro, N.; Benetazzo, A.; Arienzo, M. Progress on the Impact of Persistent Pollutants on Marine Turtles: A Review. *Journal of Marine Science and Engineering* 2023, Vol. 11, Page 266 2023, 11, 266, doi:10.3390/JMSE11020266.
6. Muñoz, C.C.; Hendriks, A.J.; Ragas, A.M.J.; Vermeiren, P. Internal and Maternal Distribution of Persistent Organic Pollutants in Sea Turtle Tissues: A Meta-Analysis. *Environ Sci Technol* 2021, 55, 10012–10024, doi:10.1021/ACS.EST.1C02845/ASSET/IMAGES/LARGE/ES1C02845\_0008.JPEG.

# **UTILIZZO DI *VIBRIO NATRIEGENS* PER LO SVILUPPO DI UN METODO DI ANALISI MICROBIOLOGICA RAPIDO E SENSIBILE ATTO ALLA RILEVAZIONE PRESUNTIVA DI *VIBRIO CHOLERAЕ* IN ACQUE POTENZIALMENTE CONTAMINATE**

*Zarabla Valeria*

*Università Roma Tre Dip. Scienze*

Le malattie idrotrasmesse, la cui diffusione avviene principalmente per via oro-fecale, rappresentano una delle più importanti problematiche sanitarie nei paesi in via di sviluppo. Tra queste, il colera risulta essere ancora endemico in alcuni paesi dell’Africa e dell’Asia ed è spesso causa di importanti focolai epidemici. Tra le cause della diffusione di queste malattie vi sono le precarie condizioni socioeconomiche e igienico-sanitarie, la gestione inadeguata degli impianti fognari e il limitato accesso all’acqua potabile. Una delle strategie per limitare l’insorgenza di queste malattie è il monitoraggio microbiologico periodico delle fonti idriche; tuttavia, in questi paesi esso è ostacolato dalla carenza di laboratori attrezzati e di personale specializzato. Lo sviluppo di nuovi metodi di analisi microbiologica che siano al contempo economici, rapidi e di più facile esecuzione rispetto ai metodi tradizionali potrebbe rappresentare un importante contributo per superare queste criticità. A tale scopo, il presente lavoro di ricerca ha avuto come obiettivo lo sviluppo di un metodo di analisi microbiologica rapido e sensibile atto alla rilevazione presuntiva di *Vibrio cholerae* in acque potenzialmente contaminate. La messa a punto di tale metodo è stata condotta per rendere possibile l’esecuzione di analisi microbiologiche per il monitoraggio delle acque, in modo rapido ed economico, anche da parte di personale non esperto, direttamente in loco e senza la necessità di utilizzo di

attrezzature da laboratorio e per poter ampliare la gamma di analisi microbiologiche MBS. Infatti, il metodo sviluppato è un metodo colorimetrico che, ponendosi come variante del metodo MBS, valuta la presenza e la concentrazione del microrganismo oggetto di studio in un dato campione in base ai tempi di viraggio di un mezzo di coltura selettivo formulato ad hoc. Poiché *Vibrio cholerae* è soggetto alle normative sull'amministrazione delle esportazioni (EAR) degli Stati Uniti e non è commercialmente reperibile nel nostro paese, in questo studio, è stato utilizzato come modello sperimentale il batterio *Vibrio natrie gens* (ATCC 14048). Per lo sviluppo del metodo, infatti, sono state sfruttate alcune caratteristiche comuni tra *V. natrie gens* e *V. cholerae* (e.g., alofilia e capacità di fermentare il saccarosio) che rendono questi microrganismi empiricamente adatti a sviluppare sovrapponibili profili di risposta al metodo. La prima fase della sperimentazione si è quindi incentrata sull'identificazione di un mezzo di coltura ottimale per la crescita e il viraggio selettivi di *V. natrie gens*, che potesse essere altresì compatibile con la crescita e il viraggio di *V. cholerae*. A tale scopo, la selettività del mezzo è stata ottimizzata modulando la concentrazione di alcuni agenti selettivi (i.e., cloruro di sodio), mentre per consentire la selettività di viraggio si è optato per l'utilizzo di specifici indicatori di pH; infatti, così come *V. cholerae*, *V. natrie gens* è in grado di fermentare il saccarosio portando alla acidificazione del mezzo di coltura. Alla identificazione di tale mezzo è seguita la valutazione della potenziale correlazione inversa tra i tempi di viraggio del reattivo e la concentrazione batterica. In parallelo, sono stati condotti esperimenti di controllo con altri microrganismi (e.g., altri batteri del genere *Vibrio*, indicatori microbiologici di contaminazione fecale, batteri Gram positivi), per escludere la possibilità di falsi positivi. I risultati ottenuti nel corso della sperimentazione hanno mostrato che tale metodo risulta efficace nella rilevazione di *Vibrio natrie gens* permettendo di raggiungere gli obiettivi prefissati di selettività, sensibilità e rapidità, mostrando una velocità di risposta notevolmente superiore ai metodi tradizionali. I

risultati di questo studio sono stati trovati interessanti dai ricercatori della Food Safety and Standards Authority of India con i quali è prevista la validazione del metodo utilizzando campioni artificialmente contaminati con *V. cholerae* o provenienti da fonti idriche suscettibili a contaminazione.

# FAECAL MICROTA TRANSPLANT ALTERS PHAGE COMMUNITIES IN A CLINICAL TRIAL FOR OBESITY

*Michele Zuppi*

*Università Roma Tre, Dipartimento Scienze*

Faecal microbiota transplantation (FMT) is an experimental therapeutic approach for gut microbiome-associated diseases, involving the introduction of donor microbiota to reshape the recipient's microbial community. While bacterial restoration has been the primary focus, increasing attention is turning to bacteriophages (phages)—viruses that infect bacteria—as active modulators of gut microbial dynamics and health. Notably, successful engraftment of donor phages has been linked to positive FMT outcomes, suggesting phages may contribute meaningfully to treatment efficacy. Phages affect gut bacterial communities via two major life cycles: the **lytic cycle**, in which they replicate and lyse host bacteria, increasing microbial diversity and turnover; and the **lysogenic cycle**, in which they integrate into host genomes, promoting stability and mutualism. Transitions between these cycles may drive shifts in microbiome structure and function, with significant implications for host health. In this study, we investigated phage transfer and engraftment in the *Gut Bugs Trial (GBT)*, a double-blind, placebo-controlled clinical trial targeting obesity. Eight healthy donors provided faecal microbiota to 42 recipients; 45 participants received a placebo. Faecal samples were collected at 6, 12, and 26 weeks post-transplant to evaluate microbiome changes. We found that donor-derived phages stably engrafted in recipients, comprising a substantial and consistent portion of their gut phageome ( $33.8 \pm 1.2\%$  in females,  $33.9 \pm 3.7\%$  in males). This engraftment shifted the recipient phageome toward that of the donor, accompanied by increased alpha diversity and beta-diversity

over time. Notably, FMT significantly increased the abundance of temperate phages—an effect not observed in virulent phages or the placebo group. These findings suggest that FMT induces a transition in the gut phage community from a lysogenic, mutualistic regime to a more lytic, predator-prey dynamic, leading to greater ecological variability. This shift may underlie the therapeutic benefits of FMT by promoting microbial turnover and functional diversification. In conclusion, our study underscores the critical role of phages in mediating FMT outcomes and supports their inclusion in future microbiome-based therapeutic analyses. Understanding phage dynamics opens new avenues for improving FMT efficacy and refining targeted interventions in the gut ecosystem.