

Con grande soddisfazione il Dipartimento di Scienze Cliniche Applicate e Biotecnologiche organizza la terza edizione del **DISCAB RESEARCH DAY**, l'evento annuale dedicato alla comunicazione e divulgazione dei risultati scientifici raggiunti dai Docenti e Ricercatori del Dipartimento nel corso dello scorso anno grazie al finanziamento **DISCAB GRANT 2023**.

Il finanziamento delle proposte progettuali è ispirato alla promozione della qualità della ricerca e del merito scientifico, alla valorizzazione dei giovani ricercatori nei programmi di ricerca, e al sostegno premiale di partecipazione di tutti gli afferenti al Dipartimento.

Nell'ottica di un continuo miglioramento delle azioni di programmazione e distribuzione delle risorse dipartimentali ed al fine di favorire la visibilità scientifica dei docenti e ricercatori del Dipartimento, il DISCAB RESEARCH DAY rappresenta un momento fondamentale di **MONITORAGGIO** del raggiungimento degli obiettivi prefissati. Questo evento ha, inoltre, l'intento di favorire l'**INCONTRO** tra le aree culturali del Dipartimento, che vanno dalle Biotecnologie Mediche alla Medicina di base e traslazionale, alla Medicina Clinica, alla Psicologia, alle Scienze del Movimento e dello Sport, di favorire l'**INTEGRAZIONE DEI SAPERI** nell'ambito della missione del Dipartimento, di sostenere lo **STUDIO DEL BENESSERE E DELLA SALUTE DELL'UOMO**, e di promuovere la **COMUNICAZIONE E DIFFUSIONE** dei risultati della ricerca.

"I filosofi, gli scrittori, gli artisti, persino gli scienziati, non hanno solo bisogno di incoraggiamento e di un pubblico: hanno anche bisogno del costante stimolo degli altri. È quasi impossibile pensare senza parlare." George Orwell

La Direttrice
Prof.ssa *Francesca Zazzeroni*

Giovedì 22 febbraio 2024

09:30-10:00 SESSIONE INTRODUTTIVA

Prof. Edoardo Alesse, Magnifico Rettore

Prof.ssa Francesca Zazzeroni, Direttrice DISCAB

Prof. Adriano Angelucci, Presidente Commissione Ricerca

YOUNG RESEARCHERS DAY – Premiazione Best Posters

10:00-11:15 RELAZIONE PROGETTI AREA ONCOLOGIA SPERIMENTALE

Moderatori: Daria Capece, Vincenzo Flati

10:00-10:15 LUCIA CAPPABIANCA, RTI MED/04

Sviluppo/Ottimizzazione di un saggio Real-Time PCR basato su chimica TaqMan per l'analisi della variante di splicing TrkAIII

10:15-10:30 DANIELA VERZELLA, RTDA MED/46

Sviluppo di nuove strategie terapeutiche per l'inibizione selettiva di NF- κ B nel Carcinoma dell'ovaio

10:30-10:45 ANTONIETTA FARINA, PA MED/04

Splicing alternativo oncogenico di TrkA nei tumori neuroendocrini ipofisari (PitNETs): un potenziale nuovo bersaglio terapeutico

10:45-11:00 ANTONIO MAURIZI, RTDA BIO/17

Ruolo della rete molecolare associata allo stress del reticolo endoplasmatico (ER) nell'adattamento delle cellule di cancro del seno quiescenti nel microambiente osseo

11:00-11:15 VERONICA ZELLI, RTDA MED/04

Analisi di espressione dei microRNA circolanti in pazienti affetti da carcinoma mammario/ovarico eredo-familiare e da epatocarcinoma

11:30-13:00 RELAZIONE PROGETTI AREA MEDICINA TRASLAZIONALE

Moderatori: Rita Maccarone, Mattia Capulli

11:30-11:45 SIMONA DELLE MONACHE, PA BIO/13

Organoids from dental pulp stem cells (DPSCs)

11:45-12:00 ROBERTO IORIO, RTI BIO/13

Caratterizzazione degli effetti citoprotettivi del β -Cariofillene, un fitocannabinoide CB2R selettivo, in cellule congiuntivali epiteliali umane esposte al danno ossidativo e mitocondriale

12:00-12:15 CRISTINA PELLEGRINI, RTDb MED/35

Role of CB2 and PPAR α endocannabinoid receptors in the pathogenesis of atopic dermatitis

12:15-12:30 ALESSANDRA PICCIRILLI, RTDA BIO/12

Sequenziamento dell'intero genoma di batteri MDR e XDR ed interazione con nuovi β -lattami ed inibitori di β -lattamasi

- 12:30-12:45 EUGENIO PONTIERI, RTI MED/07
Identificazione di isolati clinici ed ambientali appartenenti al genere Pantoea. Comparazione tra metodiche molecolari (MLST, PFGE) e MALDI-TOF
- 12:45-13:00 ROBERTA SFERRA, PA BIO/16
Valutazione degli effetti del DFL23806 su un fenotipo epatico di fibrosi sperimentalmente indotta
- 14:00-15:30 RELAZIONE PROGETTI AREA NEUROSCIENZE DI BASE, CLINICHE E SALUTE**
Moderatori: Michele Ferrara, Valerio Bonavolontà
- 14:00-14:15 DARIN ZERTI, RTDA BIO/09
Degenerazione maculare legata all'età e Morbo di Parkinson: correlazione tra due patologie neurodegenerative nell'ambito del drug repositioning
- 14:15-14:30 VERONICA CARNICELLI, RTI BIO/10
Ruolo del sistema endocannabinoide in un modello infiammatorio di cellule microgliali esposte alla luce UVB
- 14:30-14:45 MARIO ROSSI, RTDb BIO/14
Potential agonist effects of the Anti-Parkinson's disease drug Ropinirole on muscarinic receptors
- 14:45-15:00 MARIA LAURIELLO, PA MED/32
Valutazione delle Funzioni Esecutive in bambini con Ipoacusia Neurosensoriale e in bambini con Disturbo Primario del Linguaggio in età prescolare
- 15:00-15:15 GIUSEPPE CURCIO, PO M-PSI/01
Valutazione dei correlati oculomotori del decision-making: uno studio di eye-tracking
- 15:15-15:30 RICCARDO DI GIMINIANI, PA M-EDF/02
Effects induced by verbal instructions in the neuromechanics of drop vertical jumps performed from different drop heights
- 15:45-16:45 RELAZIONE PROGETTI AREA SCIENZE CLINICHE**
Moderatori: Antonio Barile, Maurizio Delvecchio
- 15:45-16:00 MICHELE TEPEDINO, RTDb MED/28
Stima e validazione mediante machine learning di un modello predittivo di età scheletrica per soggetti in crescita
- 16:00-16:15 ALESSANDRA PANARESE, PA MED/18
Analisi molecolare di nuovi biomarcatori immunologici di rigetto (CTLA-4 e PD-L1) ed insorgenza di patologie post trapianto renale nel breve e lungo termine

- 16:15-16:30 LUCIA ROMANO, DOTTORANDA MED/18
Attività sportiva e patologia emorroidaria
- 16:30-16:45 PIERO RUSCITTI, PA MED/16
Clinical and ultra-sonographic follow-up and biomarkers variation during anti IL17 and IL23 biologic treatment in patients with plaque-type psoriasis and early psoriatic arthritis
- 16:45-17:00 **CONCLUSIONE DEI LAVORI**

SVILUPPO/OTTIMIZZAZIONE DI UN SAGGIO REAL-TIME PCR BASATO SU CHIMICA TAQMAN PER L'ANALISI DELLA VARIANTE DI SPLICING TRKAIII

Cappabianca Lucia A.M., Guadagni Stefano, Mackay Andrew Reay, Marianna Ruggieri, Ilaria Martelli

Settore Scientifico Disciplinare (SSD): MED/04, MED/18

Basi Scientifiche. Lo splicing alternativo di TrkAIII, variante oncogenica del recettore TrkA caratterizzata dallo skipping degli esoni 6 e 7, è stato osservato nei neuroblastomi, nel melanoma cutaneo maligno, nel carcinoma a cellule di Merkel e nei tumori neuroendocrini ipofisari. TrkAIII si accumula nelle membrane intracellulari dove mostra un'attivazione costitutiva, con conseguente segnalazione oncogenica, aumento della metastatizzazione e recidiva post-terapeutica. Studi in vitro hanno dimostrato l'efficacia degli inibitori, approvati e utilizzati contro gli oncogeni di fusione Trk, anche contro TrkAIII nonché la capacità dell'inibitore della tirosina chinasi Lestaurtinib di abolire l'accumulo intracellulare e l'attivazione di TrkAIII, sensibilizzando le cellule al trattamento con farmaci chemioterapici come la doxorubicina.

Obiettivi. Nonostante il ruolo prognostico di TrkAIII e l'elevato potenziale terapeutico degli inibitori delle chimere TrkA anche contro TrkAIII, non sono disponibili test analitici per l'individuazione di questa variante. Questo progetto si propone quindi di sviluppare, ottimizzare e validare un test Real-Time PCR (qRT-PCR) per il rilevamento della variante TrkAIII al fine di poter estendere l'utilizzo dei farmaci, già in uso per i tumori che presentano gli oncogeni di fusione di TrkA, anche in tumori che presentano questa variante.

Risultati. Dopo la progettazione di diversi test per la variante di splicing TrkAIII, basati su chimica TaqMan, sono stati valutati i seguenti parametri: efficienza di amplificazione, sensibilità e range dinamico, riproducibilità dei risultati. I risultati evidenziano livelli ottimali di prestazione in particolare per uno dei saggi esaminati, che mostra elevata efficienza di amplificazione, sensibilità fino a 102 copie e riproducibilità dei risultati confermata in diversi esperimenti ripetuti. Non è stato osservato alcun aumento delle prestazioni del test in seguito a modifica del protocollo che prevedeva la variazione della temperatura di annealing/estensione e l'aggiunta di additivi quali DMSO e BSA.

Conclusioni & Prospettive. Nel presente studio è stato sviluppato un protocollo di analisi qRT-PCR specifico per la variante di splicing TrkAIII. Nel complesso, sono stati progettati test e sono state effettuate analisi specifiche in condizioni standard su frammenti purificati. Gli obiettivi futuri includono analisi volte a validare le performance e valutare l'accuratezza diagnostica del test nel contesto dell'intero cDNA di linee cellulari, tessuti tumorali freschi e FFPE.

VALUTAZIONE DEI CORRELATI OCULOMOTORI DEL DECISION-MAKING: UNO STUDIO DI EYE-TRACKING

Giuseppe Curcio, Simona Sacco, Alessandra Splendiani, Raffaele Ornello

Settore Scientifico Disciplinare (SSD): M-PSI/01; MED/26, MED/37

Basi Scientifiche. Il decision-making è una delle abilità cognitive più elevate e complesse evolute nel corso dei millenni. Gli studi sugli umani hanno mostrato che durante la deliberazione, il nostro cervello può muovere gli occhi in un modo che rispecchi la bontà che assegniamo (soggettivamente parlando) a ciascuna opzione, fornendo così una finestra in tempo reale su come abbiamo fatto (o stiamo facendo) la nostra scelta. Questi movimenti possono essere registrati e valutati mediante l'utilizzo di eye-tracker.

Obiettivi

Al momento non esistono studi che abbiano investigato i correlati oculomotori di compiti decisionali più complessi, come ad esempio quelli di tipo morale e di tipo economico.

Risultati

Compito di decisione morale: è stata osservata una differenza tra tempi di fissazione, diametro pupillare e frequenza di blink in occasione di decisioni morali, rispetto a quelle non morali e di controllo; ciò indica un aumento di attenzione, intensità di risposta emotiva e carico cognitivo.

Compito di decisione economica: si è osservato un aumento delle fissazioni e del diametro pupillare in occasione delle decisioni economicamente più rischiose, ad indicare incremento dell'intensità della risposta emotiva e del carico cognitivo.

L'eye-tracking si conferma un promettente strumento nello studio del decision-making umano.

Conclusioni & Prospettive. Alla luce dei risultati osservati appare interessante condurre uno studio in co-registrazione eye-tracker/EEG durante il completamento dei due task di decision-making, al fine di identificare quali aree corticali sono coinvolte e soprattutto quali sono le sorgenti dei ritmi alla base delle decisioni morali Vs. economiche. Questo possibile studio potrebbe essere condotto, inoltre, sia su gruppi di partecipanti normali che su gruppi di pazienti affetti da patologie caratterizzate da condotte "alterate" di decision-making (sindromi neurodegenerative, dipendenze da sostanze, disturbi dell'umore, etc.) per verificare il grado di disfunzionalità nei processi di decision-making e proporre adeguati protocolli di riabilitazione delle abilità di pensiero e di ragionamento.

ORGANOIDS FROM DENTAL PULP STEM CELLS (DPSCS)

Simona Delle Monache, Giovanni Luca Gravina, Luciano Mutti, Assunta Leda Biordi

Settore Scientifico Disciplinare (SSD): (SSD): BIO/13, MED/50, MED/06, MED/04

Basi Scientifiche. Organoid technology based on human mesenchymal stem cells has emerged in recent years and is developing rapidly. By mimicking native organ, this technology represents an essential tool for both human biology and pathology studies. Recently, the scientific community has been intrigued by a new source of mesenchymal stem cells called dental pulp-derived stem cells (DPSCs). Derived from the neural crest, DPSCs are physiologically involved in dentin homeostasis; they also contribute to bone remodeling and differentiation into various tissues, including cartilage, bone, adipose, and neural tissues. The mammalian embryo develops in a low O₂ environment and in this context, the hypoxia inducible factor (HIF) has additional roles in several processes. Thus, the application of 3D culture to DPSCs in combination with hypoxic conditions could allow the in vitro recapitulation of the native cellular microenvironment and lead to the development of a robust model system for tissue regeneration studies, but also for pharmacological and/or toxicological applications.

Obiettivi. The aim of this project is to develop a standardized protocol to produce organoids from dental pulp stem cells. To this aim, we used a stationary technique that cultivates the cell suspension on a non-adherent surface, i.e., 96-well plates with U-shaped bottom by using dental pulp mesenchymal stem cells (DPSCs) characterized by high regenerative potential and even easier availability.

Risultati. Preliminary tests in our laboratory allowed us to determine the optimal cell and matrigel concentration for organoid generation. We obtained viable organoids, and we were able to maintain them in culture for up to 26 days. Moreover, when incubated with specific media, these organoids showed the expression of specific differentiation markers.

Conclusioni & Prospettive. Organoids are usually cultured at 18-21% oxygen, without taking into account the physiological hypoxia (3% to <1% oxygen). We hypothesise that recapitulating in vivo physiological oxygen (i.e. physioxia) will improve their translational value as preclinical models. Thus, future perspectives will be to evaluate whether DPSCs organoids can be established and cultured in hypoxia and compare growth and differentiation responses at 2% and 20% oxygen.

EFFECTS INDUCED BY VERBAL INSTRUCTIONS IN THE NEUROMECHANICS OF DROP VERTICAL JUMPS PERFORMED FROM DIFFERENT DROP HEIGHTS

Riccardo Di Gimini, Bonavolontà Valerio, Cifelli Pierangelo, Giovannelli Aldo, Pompili Assunta, Vinciguerra Maria Giulia

Settore Scientifico Disciplinare (SSD): M-EDF/02; BIO/09; M-PSI/02

Basi Scientifiche. The Drop Vertical Jump (DVJ) is commonly used in explosive strength training and physical conditioning. Recently, it has also been applied as an exercise intervention in the functional recovery and injuries prevention.

Obiettivi. The purpose of this study was to assess acutely the influence of different verbal instructions on kinetics and neuromuscular variables of DVJ performed from different drop heights in physically active women.

Risultati. Sixteen women sport science students, involved in different sports, (volleyball, swimming, gymnastics, athletics, etc.) voluntarily participated to the present study. The participants performed DVJs from different drop heights (20, 30, and 40 cm) after receiving randomly different types of verbal instructions: "jump as high as possible" (1A), "jump as quickly as possible" (2A), "jump as high as possible and during the landing try to dump the impact at ground contact" (1B), "jump as high as quickly as possible and during the landing try to dump the impact at ground contact" (2B).

The ground reaction force depended on drop height ($F(2,180) = 20.036$; $p = 0.0001$) and verbal instructions ($F(2,180) = 70.152$; $p = 0.0001$), vice-versa the interaction between drop height and verbal instructions was not significant ($F(6,180) = 0.465$; $p = 0.833$). The different drop heights and verbal instructions showed significant values ($p \leq 0.05$). The verbal instructions affected the landing phase ($F(3,180) = 58.659$; $p = 0.0001$) but not drop height ($F(2,180) = 0.318$; $p = 0.728$) or the interaction between drop height and verbal instructions ($F(6,180) = 0.330$; $p = 0.920$). The different verbal instructions showed significant contrasts ($p \leq 0.05$).

Conclusioni & Prospettive. Kinetics and neuromuscular parameters of DVJ, during the push-off phase and landing, performed from different drop heights, were influenced by the different verbal instructions given to the participants. The verbal instructions, correctly given to the participants, maximized the performance, whereas the forces at landing were reduced.

CLINICAL AND ULTRA-SONOGRAPHIC FOLLOW-UP AND BIOMARKERS VARIATION DURING ANTI IL17 AND IL23 BIOLOGIC TREATMENT IN PATIENTS WITH PLAQUE-TYPE PSORIASIS AND EARLY PSORIATIC ARTHRITIS

Maria Esposito, Antonio Barile, Paola Cipriani, Maria Concetta Fargnoli, **Piero Ruscitti**

Settore Scientifico Disciplinare (SSD): MED/35, MED/36, MED/16

Basi Scientifiche. The idea of psoriatic disease continuum has been progressively prompted based on the advances of the knowledge about the occurrence of psoriasis (PSO) and psoriatic arthritis (PSA). PSO is an inflammatory skin disease characterized by erythematous and scaly papules and plaques. Among patients with PSO, musculoskeletal inflammatory manifestations may be observed due to the occurrence of PSA. Considering this heterogeneous clinical picture, by arranging a multi-disciplinary research group, we organized a study protocol to perform a multi-dimensional characterization of the psoriatic disease, integrating clinical features, high frequency ultrasound findings (HFUS), and mechanistic biomarkers.

Obiettivi. We investigated clinical, ultrasound, and laboratory features following the administration of IL-17 or IL-23 inhibitors in patients with PSO and early PSA. Specifically, we aimed to evaluate how the clinical data, HFUS findings, and sera biomolecules (inflammatory cytokines, inflammatory chemokines, cell adhesion and cellular mediators) could modify after the administration of these biologic agents in a 6-month follow-up. In the absence of specific criteria for defining the early PSA, we assessed patients with PSO and a diagnosis of PSA or PSA symptom appearance within the previous 2 years.

Risultati. The study enrollment is still ongoing before performing the final analyses. We planned to analyze data from 20 consecutive patients with PSO and early PSA without a specific sample size (10 treated with IL-27 inhibitors, 10 treated with IL-23 inhibitors) due to the exploratory nature of this evaluation. Presently, 11 out of 20 patients completed the 6 month-follow-up, having already performed the clinical evaluations (both dermatological and rheumatological), HFUS assessments, and biologic sample collections, before and after the treatment. In the next few months, the study will be completed. Paralleling with the main activities, our study provided the possibility to assess further clinical data about the efficacy of these biologic agents. In fact, we parallelly evaluated the efficacy of an IL-23 inhibitor on in patients with PSA and axial manifestations.

Conclusioni & Prospettive. Our multi-disciplinary approach may contribute to dissect the heterogeneity of the psoriatic disease, integrating clinical, HFUS, and laboratory features. Also, this multidimensional characterization could more accurately evaluate the efficacy of administered therapies in these patients.

SPlicing ALTERNATIVO ONCOGENICO DI TRKA NEI TUMORI NEUROENDOCRINI IPOFISARI (PITNETS): UN POTENZIALE NUOVO BERSAGLIO TERAPEUTICO

Antonietta R. Farina, Marie Lise Jaffrain-Rea, Marco Clementi, Maddalena Sbaiffone, Francesca Carbonara

Settore Scientifico Disciplinare (SSD): MED/04, MED/13, MED/18

Basi Scientifiche. Come meccanismo di attivazione della via di segnalazione oncogenica, lo splicing alternativo risulta essere predominante rispetto alla mutazione genica in molti tumori. I tumori neuroendocrini ipofisari (PitNET), sebbene tipicamente benigni, comprendono una piccola percentuale di tumori aggressivi, occasionalmente metastatici, resistenti alla terapia, suggerendo la necessità di identificare nuovi bersagli terapeutici. I PitNET presentano poche mutazioni somatiche ma si associano a condizioni che promuovono lo splicing alternativo, come alternativa oncogenica, ed esprimono il recettore della neurotrofina TrkA, che mostra uno splicing oncogenico alternativo “TrkAIII” in altri tumori tra cui il Neuroblastoma, melanoma cutaneo maligno (CMM) e il carcinoma a cellule di Merkel (MCC) MCPyV+ . Considerando che la terapia inibitoria di TrkA mostra una profonda efficacia di lunga durata nei tumori guidati dall'oncogene di fusione TrkA e che lo splicing alternativo “TrkAIII” ne rappresenta un equivalente oncogenico, abbiamo valutato se anche TrkAIII può rappresentare un meccanismo oncogenico nei tumori neuroendocrini ipofisari ed esserne potenzialmente un target terapeutico.

Obiettivi. Indagare la potenziale relazione tra splicing oncogenico alternativo “TrkAIII”, espressione delle isoforme a localizzazione intracellulare di TrkA, attivazione delle diverse isoforme di TrkA, espressione di geni regolati dall'ipossia, fattori di splicing e presenza di JCPyV nei PitNET con l'obiettivo finale di stabilire se TrkAIII può rappresentare un target terapeutico in queste patologie tumorali.

Risultati.

- Lo splicing alternativo “TrkAIII” è stato valutato, mediante RT-PCR, in una casistica di 53 PitNET umani (26 invasivi e 27 non invasivi suddivisi nei loro diversi sottogruppi “PIT1, TPIT, SF1”) e rilevato in tutti i fenotipi PitNET invasivi ed associato a IF coerente con l'attivazione intracellulare di TrkAIII
- L'espressione di TrkAIII a livello di mRNA non risulta associata con mutazioni nell'hotspot di SF3B1, con espressione alterata dell'mRNA dei fattori di splicing SF3B1, SRSF2 e U2AF1, espressione del “LT antigen” JCPyV o lo splicing non convenzionale Xbp1.
- Attraverso il sequenziamento di tutte le forme di splicing rilevate nei PitNETs risulta che TrkAIII rappresenta l'unica variante di splicing di TrkA in-frame.
- Un potenziale ruolo dell'ipossia nello splicing di TrkAIII è stato supportato da un aumento significativo dell'espressione dell'mRNA di HIF2a nei PitNET PIT1 invasivi che mostravano una elevata espressione dell'mRNA TrkAIII.

Conclusioni & Prospettive. Proseguire nello studio proposto al fine di validare i risultati ottenuti aumentando la casistica in particolare per i sottotipi di PitNET meno rappresentati nello studio effettuato (TPIT).

ATTIVITÀ SPORTIVA E PATOLOGIA EMORROIDARIA

Antonio Giuliani, Lucia Romano, Federico Paniccia

Settore Scientifico Disciplinare (SSD): MED/18

Basi Scientifiche. Le emorroidi costituiscono un grave problema socio-economico e medico. La patologia è legata alla dilatazione del plesso venoso e può determinare sintomi quali prurito, dolore, sanguinamento, trombosi e prolasso. Alcune abitudini dietetiche, il sovrappeso, la sedentarietà, la stipsi e l'esercizio fisico intenso o prolungato potrebbero avere un ruolo nella genesi della patologia o nella sua progressione verso forme più severe, sebbene l'esatto meccanismo ancora non sia completamente noto.

Obiettivi. Valutare il tasso di incidenza di patologia emorroidaria tra le persone che praticano o che abbiano praticato sport, analizzando le diverse tipologie di attività.

Risultati. I dati sono stati raccolti, previa acquisizione del consenso informato, mediante somministrazione di un questionario di 15 items sulla piattaforma online Microsoft Teams. Di 312 partecipanti allo studio, il 54% era rappresentato da maschi e il 45% da femmine; l'età media era di 38 anni. Il 34% dei partecipanti è risultato affetto da malattia emorroidaria. Gli sport annoverati nello studio sono stati raggruppati in 7 classi. Tra chi praticava ciclismo ed equitazione, il 57% riferiva presenza di emorroidi, tra i body-builders il 48%. Dall'analisi multivariata, il body building (OR = 2.89, 95% CI: 1.05 – 7.90) e l'età (OR = 1.04, 95% CI: 1.01 – 1.06) mostravano un'associazione statisticamente significativa con l'occorrenza della malattia. Al contrario, sport quali trekking, sci da discesa, sci di fondo ed alpinismo sembravano ridurre il rischio di insorgenza. Sulla base dei risultati ottenuti dal suddetto modello, è stato proposto uno score di probabilità, la cui performance è stata valutata in termini di AUC (0,72).

Conclusioni & Prospettive. Tra i prossimi obiettivi della ricerca c'è quello di ampliare il campione, diffondendo il questionario su scala nazionale, per studiare in modo più dettagliato le singole tipologie di sport e la loro associazione con la patologia emorroidaria. Uno score predittivo che valuti parametri correlati all'attività sportiva può essere utile per stratificare il rischio individuale.

CARATTERIZZAZIONE DEGLI EFFETTI CITOPROTETTIVI DEL β -CARIOFILLENE, UN FITOCANNABINOIDE CB2R SELETTIVO, IN CELLULE CONGIUNTIVALI EPITELIALI UMANE ESPOSTE AL DANNO OSSIDATIVO E MITOCONDRIALE

Roberto Iorio, Giuseppe Celenza, Nicola Franceschini, Sabrina Petricca

Settore Scientifico Disciplinare (SSD): BIO/13

Basi Scientifiche. I pazienti glaucomatosi sono trattati cronicamente con colliri ipotonizzanti, poiché il trattamento medico è considerato di prima linea per controllare il glaucoma nella sua fase di evoluzione. I disordini della superficie oculare attribuibili al principio attivo del farmaco o ai conservanti in esso contenuti sono comuni. Infatti, alcune molecole comunemente utilizzate nel trattamento del glaucoma possono dare degli effetti infiammatori o indurre forme di stress ossidativo sulla superficie oculare; tra questi la Brimonidina (alfa-agonista), la Dorzolamide (inibitore dell'anidrasi carbonica), e il Tafluprost (analogo delle prostaglandine). Questi effetti porterebbero, di conseguenza, ad una ridotta tollerabilità dei colliri antiglaucomatosi associata ad una minore compliance del paziente. In questa prospettiva, l'utilizzo del β -Cariofillene (un fitocannabinoide CB2R selettivo con attività antiossidante/antiinfiammatoria), in miscele adiuvanti i singoli principi attivi antiglaucoma, potrebbe rendere migliorativa l'efficacia dei colliri esistenti.

Obiettivi. L'obiettivo di questo progetto è stato quello di investigare in vitro gli effetti citoprotettivi del β -Cariofillene in cellule congiuntivali epiteliali umane (HCECs) esposte al danno ossidativo e mitocondriale indotto da farmaci antiglaucoma.

Risultati. I risultati conseguiti indicano un'attività citoprotettiva del β -Cariofillene sugli effetti antiproliferativi indotti dalla Brimonidina e dalla Dorzolamide. In particolare, il fitocannabinoide risulta efficace nel ridurre gli effetti negativi indotti dalla Brimonidina in termini di: 1) citotossicità concentrazione- e tempo-dipendente (24 e 48 h) associata ad un blocco del ciclo cellulare in fase G2/M e ad un significativo aumento del grado di apoptosi; 2) alterazioni dell'omeostasi mitocondriale che si riflette in una riduzione significativa della percentuale di cellule con alto potenziale di membrana mitocondriale ($\Delta\Psi_{mhigh}$) ed un incremento di quella con $\Delta\Psi_{mLow}$, accompagnata ad un decremento dell'intensità di fluorescenza media (MFI) nel rosso; 3) stress ossidativo (aumenti significativi delle ROS intracellulari e alterazioni dei livelli di attività degli enzimi antiossidanti).

Conclusioni & Prospettive. Altri studi saranno necessari per identificare il meccanismo molecolare alla base della capacità di risposta antiossidante e mitoprotettiva indotta dal β -Cariofillene, valutando le possibili modificazioni della via Nrf2/HO-1 dipendente.

VALUTAZIONE DELLE FUNZIONI ESECUTIVE IN BAMBINI CON IPOACUSIA NEUROSENSORIALE E IN BAMBINI CON DISTURBO PRIMARIO DEL LINGUAGGIO IN ETÀ PRESCOLARE

Maria Lauriello, Alberto Eibenstein

Settore Scientifico Disciplinare (SSD): MED/32, MED/31

Basi Scientifiche. Le Funzioni Esecutive (FE) sono una serie di abilità, associate ai lobi frontali, fondamentali per la programmazione del comportamento motorio, l'inibizione di risposte immediate, l'astrazione, la risoluzione di problemi, il ri-orientamento del comportamento in funzione delle conseguenze delle proprie azioni. Esistono scarsi dati in letteratura sulle FE nell'ipoacusia e nel Disturbo Primario di Linguaggio (DPL) in età pre-scolare.

Obiettivi. Il presente studio si è proposto di valutare le FE in tre gruppi di bambini di età prescolare compresa tra 2 e 6 anni (media: 4.22 ± 1.14), 19 bambini con sviluppo cognitivo e linguistico tipico, 10 bambini con Ipoacusia Neurosensoriale e 20 bambini con DPL. È stata usata la Batteria FE-PS 2-6 per la valutazione delle FE in età prescolare, integrando con il Test delle Campanelle Modificato per l'analisi dell'attenzione. In particolare, sono state prese in esame l'inibizione, la memoria di lavoro, la flessibilità, l'attenzione e l'attenzione selettiva.

Risultati. Le analisi statistiche sono state effettuate utilizzando il software Stata Statistical: Release 12 (Stata Corp LP, College Station, TX, USA) mediante il test di Kruskal-Wallis (valori di $p < 0,05$ sono stati considerati statisticamente significativi).

I bambini ipoacusici hanno incontrato maggiori difficoltà nella capacità di inibire la risposta motoria continua e nell'inibire/attivare una risposta motoria a seguito di una richiesta verbale. Sono state, altresì, rilevate notevoli difficoltà nella memoria di lavoro. Nei bambini con DPL sono state evidenziate maggiori difficoltà nell'inibire la risposta verbale dominante in favore di una non dominante, nell'inibire/attivare una risposta motoria a seguito di una richiesta verbale e nella memoria di lavoro, i cui risultati sono stati comunque migliori rispetto ai bambini ipoacusici. In entrambi i gruppi di studio la flessibilità e l'autoregolazione emotiva sono risultate carenti rispetto al gruppo di controllo, anche se i bambini con ipoacusia si sono dimostrati maggiormente deficitari in merito alla flessibilità.

Conclusioni & Prospettive. La prosecuzione del presente studio prevede l'incremento della numerosità dei gruppi in esame, oltre che un follow-up successivo a un intervento mirato alle abilità indagate, che risultano fondamentali anche per lo sviluppo del linguaggio.

**DEGENERAZIONE MACULARE LEGATA ALL'ETÀ E MORBO DI PARKINSON:
CORRELAZIONE TRA DUE PATOLOGIE NEURODEGENERATIVE NELL'AMBITO DEL
DRUG REPOSITIONING**

Rita Maccarone, Francesca Pistoia, Darin Zerti, Giulia Carozza, Gennaro Saporito, Annamaria Capozzo

Settore Scientifico Disciplinare (SSD): BIO/09, MED/26

Basi Scientifiche. Il progetto di ricerca prende spunto da evidenze cliniche che hanno dimostrato una minore incidenza della degenerazione maculare legata all'età (DMLE) in pazienti Parkinsoniani sotto trattamento con L-DOPA e dalla necessità di sviluppare una terapia efficace per la DMLE, una patologia degenerativa progressiva molto invalidante, che può indurre cecità e che ad oggi non ha ancora una cura risolutiva.

Obiettivi. Il Primo obiettivo è stato quello di valutare l'effetto della L-DOPA, precursore della sintesi della melanina e farmaco di elezione per la malattia di Parkinson, su cellule di epitelio pigmentato retinico umane (ARPE-19) in condizioni fisiologiche o sottoposte a stress ossidativo, con il fine di verificare se la somministrazione di L-DOPA potesse avere un effetto protettivo in caso di DMLE. L'obiettivo degli studi clinici su pazienti Parkinsoniani è stato quello di correlare, attraverso l'esame oftalmologico, lo stato morfologico della retina con il fenotipo clinico e la terapia somministrata.

Risultati. E' stata prima di tutto dimostrata l'espressione del recettore GPR143, specifico per la L- DOPA, nelle cellule di epitelio pigmentato, ARPE-19. Inoltre uno studio di dose-risposta ha mostrato un effetto non citotossico della L-DOPA fino alla concentrazione di 100 μ M. Inoltre, le concentrazioni di 50 e 100 μ M hanno preservato significativamente la vitalità cellulare di ARPE-19 esposte a stress ossidativo. Nel Centro Parkinson e Disturbi del Movimento, dell'Ospedale S. Salvatore sono stati, ad oggi, analizzati un totale di 22 occhi da 11 soggetti parkinsoniani che verranno in seguito confrontati con un gruppo di controllo.

Conclusioni & Prospettive. I dati ottenuti finora sono di grande incoraggiamento per proseguire con studi di drug repositioning della L-DOPA. Con ulteriori studi approfondiremo i meccanismi d'azione della L-DOPA in un contesto retinico di degenerazione e il ruolo che può avere nella sintesi della melanina.

RUOLO DEL SISTEMA ENDOCANNABINOIDE IN UN MODELLO INFIAMMATORIO DI CELLULE MICROGLIALI ESPOSTE ALLA LUCE UVB

Mauro Maccarrone, Vincenzo Flati, Veronica Carnicelli

Settore Scientifico Disciplinare (SSD): BIO/10

Basi Scientifiche. Le cellule microgliali sono le principali cellule immunitarie del sistema nervoso centrale, in quanto ristabiliscono l'omeostasi dei neuroni e dei fotorecettori della retina destabilizzata da un'esposizione prolungata ad agenti dannosi, sia chimici che fisici. Il "sistema endocannabinoide (SE)" svolge un ruolo chiave nella regolazione dell'attività della microglia, e, pertanto, la sua modulazione è una strategia interessante per la prevenzione delle patologie neurodegenerative. In questo progetto sono state utilizzate come modello di microglia le cellule BV2, trattate con uno stimolo fisico – radiazioni UVB (dose di 153 mJ/cm² e recupero di 24 ore) - poiché l'esposizione alla luce è uno dei fattori che induce tossicità nei sistemi cellulari dell'occhio. Le cellule ottenute rappresentano un modello attivato di microglia, caratterizzato dall'aumento dei livelli di TNF- α e IL-1 β e dalla diminuzione di IL-10.

Obiettivi. Il presente progetto si propone di:

- studiare la funzionalità delle cellule BV2 irradiate con UVB, analizzando la chemiotassi e la fagocitosi
- caratterizzare il sistema endocannabinoide in cellule BV2 irradiate
- valutare gli effetti dei modulatori dell'SE sullo stato di attivazione delle cellule BV2 irradiate e sulla loro funzionalità

Risultati. L'esposizione ai raggi UVB induce un aumento sia della migrazione delle cellule BV2 che della fagocitosi del peptide A β 1-42 FITC, indicando uno stato di attivazione della microglia in seguito all'irradiazione. E' stata, quindi, caratterizzata l'espressione proteica dei componenti dell'SE. I risultati evidenziano un significativo aumento dell'enzima che degrada l'anandamide, la palmitoiletanolammide e l'oleiletanolammide - cioè l'idrolasi delle ammidi degli acidi grassi (FAAH) - in seguito all'irradiazione. Al fine di esaminare il possibile contributo dell'attività di questo enzima nella modulazione dei cambiamenti cellulari indotti dall'irradiazione, le cellule sono state trattate con l'inibitore della FAAH - URB597 - aggiunto dopo l'esposizione a UVB. L'inibizione della FAAH riporta i valori di IL-1 β e IL-10 ai valori delle cellule di controllo non irradiate, mentre il ripristino dei livelli di TNF- α è risultato solo parziale. La capacità di migrare è completamente ripristinata da URB597, mentre non si osservano cambiamenti sull'attività fagocitaria.

Conclusioni & Prospettive. I risultati dimostrano che la manipolazione farmacologica dell'SE con l'inibizione della FAAH mitiga il danno di cellule microgliali indotto dai raggi UVB e pongono le basi per ulteriori studi sul ruolo dei lipidi bioattivi nelle risposte immunitarie indotte dalla luce.

RUOLO DELLA RETE MOLECOLARE ASSOCIATA ALLO STRESS DEL RETICOLO ENDOPLASMATICO (ER) NELL'ADATTAMENTO DELLE CELLULE DI CANCRO DEL SENO QUIESCENTI NEL MICROAMBIENTE OSSEO

Antonio Maurizi, Anna Maria Teti

Settore Scientifico Disciplinare (SSD): BIO/17

Basi Scientifiche. In questo progetto, abbiamo ipotizzato che lo stress del reticolo endoplasmatico (ER stress) e la rete molecolare ad esso associata possa indurre le cellule di carcinoma della mammella (BrCa) dormienti ad adattarsi e a sopravvivere a lungo nel microambiente osseo. Questo potrebbe rappresentare un potenziale meccanismo bersaglio per prevenire la dormienza ed eradicare queste cellule maligne

Obiettivi.

- Caratterizzare l'ER stress e la rete molecolare associata nelle cellule BrCa quiescenti.
- Bersagliare l'ER stress nelle cellule BrCa quiescenti.

Risultati. Le analisi sono state condotte sul nostro modello in vitro di dormienza cellulare, rappresentato da cellule MDA-MB231 (MDA) che esprimono alti livelli di Notch2 (Notch2High), precedentemente identificate nel microambiente osseo. L'analisi di RNA-seq e la successiva conferma mediante Real time PCR, ha rivelato l'espressione differenziale di geni associati all'ER stress, nelle cellule MDA-Notch2High rispetto alle cellule MDA-Notch2Low. Successivamente abbiamo scoperto che i marcatori identificati interagivano con proteine codificate dai geni DUSP1, IRF1 e NGF, trovati arricchiti nelle MDA-Notch2High, e il cui coinvolgimento nell'ER stress non era noto, suggerendo la presenza di una rete molecolare associate all'ER stress. Inoltre, anche i marcatori canonici dell'ER stress e i geni bersaglio dell'Unfolded Protein Response (UPR), sono risultati significativamente più elevati nelle cellule MDA-Notch2High. Tuttavia, il trattamento delle cellule MDA-Notch2High con l'induttore dell'ER stress DL-Ditiotreitolo (DTT) non ha indotto alcun ulteriore aumento di espressione dei marcatori di stress, indicando una minore risposta UPR che potrebbe proteggere le cellule Notch2High dagli effetti deleteri dell'ER stress, come l'apoptosi. Analisi di immunofluorescenza e Western blot hanno rivelato un blocco del flusso autofagico nelle MDA-Notch2High rispetto alle MDA-Notch2Low. Risultati simili sono stati ottenuti su cellule MDA che overesprimenti NOTCH2. Il successivo trattamento con Carbamazepina (CBZ) era in grado di aumentare la proliferazione cellulare delle cellule MDA Notch2High, riducendone la staminalità. È interessante notare che la CBZ non ha mostrato alcun effetto sulla popolazione totale di cellule MDA o sulle Notch2Low, indicando una selettività nel colpire la popolazione dormiente.

Conclusioni & Prospettive. Questi risultati suggeriscono che il targeting dell'ER stress potrebbe potenzialmente prevenire o revertire lo stato di quiescenza, rendendo le cellule quiescenti sensibili alle terapie standard.

ANALISI MOLECOLARE DI NUOVI BIOMARCATORI IMMUNOLOGICI DI RIGETTO (CTLA-4 E PD-L1) ED INSORGENZA DI PATOLOGIE POST TRAPIANTO RENALE NEL BREVE E LUNGO TERMINE

Alessandra Panarese, Francesco Pisani, Angelica Canossi (CNR-IFT)

Settore Scientifico Disciplinare (SSD): MED/18

Basi Scientifiche. Il rigetto acuto renale rimane un maggiore ostacolo per la sopravvivenza a lungo termine del trapianto in quanto predispone al danno cronico, con un declino progressivo della funzionalità renale. Alcune molecole co-inibitorie (CTLA-4, PD-L1) sembrano essere implicate nella tolleranza periferica su una diversa risposta alloimmune dopo il trapianto renale, agendo da co-inibitori nelle risposte cellulari CD4⁺ e CD8⁺.

Obiettivi. Lo scopo del nostro studio è stato quello di sviluppare un nuovo strumento diagnostico non invasivo, basato su un'analisi accurata del pattern di espressione molecolari di PD-L1 e CTLA-4 partendo da sangue periferico, esaminati durante il primo anno post-trapianto e poi a distanza di anni dal trapianto renale, in grado di prevedere l'insorgenza di disfunzione renale, aTCMR, DGF e sviluppo di DSA de novo e disfunzione renale, nella prospettiva di una medicina precisa e personalizzata.

Risultati. Nel nostro campione di pazienti abbiamo evidenziato che i livelli proteici di PD-L1 scendono significativamente dal momento del trapianto (media: 21.40 pg/mL) nei vari punti di monitoraggio, dopo 15 giorni ($p < 0.0001$) e 60 giorni ($p < 0.0001$), andando fino ad 1 anno dopo il trapianto di rene (60D vs. 1y, $p = 0.052$); al momento del rigetto acuto i livelli sono sempre significativamente più bassi dello stato basale pre-trapianto ($p = 0.0010$), ma più elevati rispetto a quelli dopo 60 giorni (media: 6.519 vs 5.631 pg/mL). Per quanto riguarda i livelli delle molecole solubili CTLA-4, abbiamo osservato una leggera diminuzione, dal momento T0 basale (113.2 pg/mL) rispetto a quelli dopo 15 giorni (86.6 pg/mL), 60 giorni e dopo 1 anno dal trapianto (87.52 pg/mL). Si è osservato un leggero aumento di espressione al momento del rigetto acuto (98.1 pg/mL) rispetto a 60 giorni dal trapianto, ma non significativo. Dal confronto dei livelli di PD-L1 nei pazienti con e senza comparsa di DGF, si è evidenziata una più elevata concentrazione mediana a 15 giorni dal trapianto nei riceventi con DGF, rispetto a quelli senza DGF (7.07 pg/mL vs 4.692, $p = 0.0062$, Mann Whitney test).

Conclusioni & Prospettive. La definizione di tali biomarkers aiuterà nella predizione dei primi segni di risposta cellulare al graft, riducendo la necessità di biopsie con rischi di esecuzione.

ROLE OF CB2 AND PPARA ENDOCANNABINOID RECEPTORS IN THE PATHOGENESIS OF ATOPIC DERMATITIS

Cristina Pellegrini, Gabriele D'Andrea, Mirco Mastrangelo, Anna Rita Lizzi, Eleonora Lucantonio, Irene Flati, Daria Capece

Settore Scientifico Disciplinare (SSD): MED/35

Basi Scientifiche. Atopic Dermatitis (AD) is a complex skin disease with multiple contributing factors. When keratinocytes are activated, they release proinflammatory cytokines that trigger Th2 lymphocytes to create an essential inflammatory environment leading and sustaining the AD pathogenesis. Recent research has shown that the endocannabinoid system (ECS) regulates various skin processes, such as proliferation, lipidic metabolism and immuno-tolerance of keratinocytes. While some components of the ECS have been suggested to play a role in AD, further research is needed to fully understand the role of all ECS members in this condition. In our previous work, we demonstrated a significant modulation of the PPAR α and CB2, both key receptors of the ECS, in an AD cellular model compared to normal keratinocytes. The CB2 is a G protein-coupled receptor, predominately expressed in the immune system, and is emerging as an attractive therapeutic target for immunomodulation and treatment of inflammatory and neuropathic pain. However, its role on AD has not been clearly defined.

Obiettivi. The aim of this study was to define the role of CB2 in the inflammatory pathogenesis of AD, by inhibiting its activity in an in vitro AD model.

Risultati. Following CB2 inhibition with the SR144528 molecule, we observed that the markers of atopic dermatitis (FLG, IVL, LOR) had not been restored, and their expression was unchanged between the treated and untreated conditions. However, we observed increasing level of the PPAR α ($p=0.045$) and a significant decrease of PPAR δ ($p=0.011$) in the inhibited model. The mRNA expression of both these proteins follows the same trend. All other members of the ECS are not significantly modulated either at the mRNA or protein level. Regarding the inflammatory environment, the CB2 inhibition led to lower levels of mRNA of IL-31 ($p<0,002$), CCL22 ($p=0,014$), and IL33 ($p=0,070$), all cytokines involved in itching. The analysis of metabolic profile of AD model demonstrated a metabolic change, significantly shifted towards oxidative phosphorylation from the glycolysis.

Conclusioni & Prospettive.

- To evaluate the effects of PPAR α modulation on the release of key AD inflammatory cytokines.
- To study the metabolic profile following the inhibition of CB2 and the PPAR α modulation.

SEQUENZIAMENTO DELL'INTERO GENOMA DI BATTERI MDR E XDR ED INTERAZIONE CON NUOVI β -LATTAMI ED INIBITORI DI β -LATTAMASI

Alessandra Piccirilli, Grazia Perilli, Brisdelli Fabrizio

Settore Scientifico Disciplinare (SSD): BIO/12, BIO/10

Basi Scientifiche. La resistenza antimicrobica rappresenta una delle principali minacce globali alla salute pubblica. Negli ultimi anni, molti batteri patogeni clinicamente rilevanti si stanno rapidamente evolvendo, grazie all'acquisizione di nuovi determinanti di resistenza, verso fenotipi multi-durg (MDR) o extensively-drug (XDR), riducendo drasticamente le opzioni terapeutiche.

Obiettivi. L'obiettivo del progetto di ricerca è stato quello di analizzare, mediante Next-Generation Sequencing (NGS), il genoma di isolati clinici MDR e XDR e di valutare l'attività di un nuovo antibiotico, il cefiderocol, e di inibitori verso patogeni produttori di β -lattamasi appartenenti alle classi molecolari A, B, C e D.

Risultati. Il sequenziamento dell'intero genoma è stato effettuato, mediante piattaforma Illumina, su ceppi di *Salmonella enterica* e *Citrobacter freundii* isolati da un unico paziente affetto da leucemia mieloide acuta ricoverato presso l'Ospedale Universitario di Trieste e su cinque *Acinetobacter baumannii* MDR, provenienti da pazienti ricoverati in terapia intensiva presso l'ospedale Cotugno di Napoli. Un plasmide di 150 Kb, isolato da *S. enterica* e *C. freundii*, è stato sequenziato con sistema Nanopore ed è stato dimostrato il "salto" dello stesso fra le due diverse specie batteriche. Il plasmide presentava anche un integrone di classe 1 con cinque cassette geniche che conferivano ad entrambi i ceppi resistenza ai carbapenemi, cefalosporine di terza generazione, aminoglicosidi e fluorochinoloni. Riguardo agli *A. baumannii* MDR, oltre all'analisi del resistoma e viruloma, è stata effettuata un'analisi cinetica e di checkerboard con lo scopo di testare l'attività del cefiderocol, comparandolo con molecole di vecchia generazione. In quattro degli *A. baumannii* analizzati sono state identificate mutazioni nella penicillin binding protein di tipo 3 (PBP3) che è il target dei β -lattami. Le mutazioni nella PBP3 individuate sono state K235N e H370Y. Quest'ultima risultava presente in ceppi resistenti isolati da pazienti che erano stati sottoposti ad una terapia con cefiderocol.

Conclusioni & Prospettive. Nel prossimo futuro, l'obiettivo sarà quello di clonare i geni relativi alla PBP3 mutata (K235N e H370Y) per studiarne le caratteristiche biochimiche, cinetiche e strutturali. Questo permetterà di capire meglio l'interazione del cefiderocol con tale bersaglio molecolare.

IDENTIFICAZIONE DI ISOLATI CLINICI ED AMBIENTALI APPARTENENTI AL GENERE PANTOEA. COMPARAZIONE TRA METODICHE MOLECOLARI (MLST, PFGE) E MALDI-TOF

Eugenio Pontieri, Mattia Capulli

Settore Scientifico Disciplinare (SSD): MED/07, BIO/16

Basi Scientifiche. I batteri Gram-negativi del genere *Pantoea* (famiglia Enterobacteriaceae) introdotto da Gavini F et al. nel 1989 e derivato dai generi *Erwinia* ed *Enterobacter*, sono comunemente isolati da ambienti acquatici e/o terrestri e come commensali nell'uomo e negli animali. Oltre che importanti patogeni per le piante, spesso con gravi danni economici in agricoltura, sono considerati patogeni opportunisti emergenti per l'uomo. Infatti, sono isolati da varie fonti cliniche in particolare se applicati CVC e vari tubi per l'idratazione, somministrazione di prodotti ematici e propofol (un anestetico). Nella microbiologia clinica ospedaliera si sta imponendo l'identificazione batterica mediante MALDI-TOF per la rapidità dei test ed i costi inferiori rispetto a metodiche colturali e/o molecolari. Diversi autori riportano errate, ambigue o nulle identificazioni MALDI-TOF per il genere *Pantoea*.

Obiettivi. Obiettivo del lavoro proposto è stato validare l'analisi MALDI-TOF mediante analisi molecolare della sequenza del 16SrRNA, MLST (geni *rpoB* e *gyrB*) e PFGE di 6 isolati ambientali e 6 clinici identificati rispettivamente mediante gallerie API e gallerie API/MALDI-TOF come appartenenti al genere *Pantoea*. Su un isolato clinico segnalato e confermato blaVIM resistente è stata effettuata l'analisi molecolare dell'antibiotico resistenza.

Risultati. Effettuando il BLAST delle sequenze del 16SrRNA, *rpoB* e *gyrB*, 5 degli isolati clinici sono risultati *Pantoea*, specie agglomerans o dispersa. Il ceppo blaVIM, invece, è stato individuato come *Pseudocitrobacter corydidari*, nuovo genere di Enterobacteriaceae proposto nel 2014 da Kamfer P. e collaboratori. La stessa analisi individua 100% di omologia delle sequenze 16SrRNA ed *rpoB* dei ceppi ambientali con un isolato ematologico *Erwinia species strain BC051422*, la cui sequenza è stata pubblicata parzialmente solo di recente. E' da sottolineare come due diversi MALDI-TOF biotyper, Vitek-MS bioMerieux e Bruker Daltonics, non abbiano fornito un'identificazione per i ceppi ambientali. Nell'analisi molecolare della AR sull'isolato blaVIM abbiamo individuato un integrone di Classe 1 recante 4 cassette geniche di AR, di cui la blaVIM è la prima, già riportato ampiamente in Italia tra le Enterobacteriaceae.

Conclusioni & Prospettive. Considerando la potenziale natura plasmidica della resistenza blaVIM verrà isolato e sequenziato il plasmide recante l'integrone di Classe 1. Inoltre sarebbe opportuno sequenziare integralmente i dodici ceppi che attraverso l'analisi genetica PFGE sono suddivisi in 9 pulsotipi.

POTENTIAL AGONIST EFFECTS OF THE ANTI-PARKINSON'S DISEASE DRUG ROPINIROLE ON MUSCARINIC RECEPTORS

Mario Rossi, Roberto Maggio, Francesco Petragnano, Irene Fasciani, Gabriella Aloisi, Alessandra De Santis

Settore Scientifico Disciplinare (SSD): BIO/14

Basi Scientifiche. Ropinirole is a new generation of non-ergot alkaloid agonist for the dopamine D2/D3 receptors used to promote dopaminergic receptor signaling in PD patients. However, Ropinirole therapy has also been associated to important side effects including hypotension, orthostatic hypotension, nausea, dyskinesia, sinus node dysfunctions, Syncope, sleep attacks, hallucinations, and bradycardia. Interestingly, several of these Ropinirole side effects have also been associated with an improper activation of the type 2 muscarinic receptor (M2R), such as bradycardia, hypotension, sinus-node dysfunctions, and narcoleptics. In fact, the M2 receptor is highly expressed in the heart and regulates inotropy and bradycardia. The M2R is also found in smooth muscle.

Obiettivi. Investigate M2 muscarinic receptor as an off-target of the anti-parkinson disease drug, Ropinirole, a D2/D3 agonist.

Risultati. Our invitro assays suggest that the M2 muscarinic receptor is an off-target of Ropinirole, which appears to behave as an agonist or a partial agonist at the M2 muscarinic Receptor.

Conclusioni & Prospettive. To the best of our knowledge, this is the first report that shows the ability of Ropinirole to activate the M2 muscarinic receptor. Such finding might explain some of the most important adverse effects observed in the anti-Parkinson's disease therapy based on ropinirole. More experiments should be performed to fully carhacterized the impact of these findings in ex-vivo and in-vivo approaches.

VALUTAZIONE DEGLI EFFETTI DEL DFL23806 SU UN FENOTIPO EPATICO DI FIBROSI SPERIMENTALMENTE INDOTTA

Roberta Sferra, Antonella Vetusch, Simona Pompili, Nadia Rucci.

Settore Scientifico Disciplinare (SSD): BIO/16, BIO/17

Basi Scientifiche. Gli acidi grassi liberi (free fatty acids, FFAs) rivestono un ruolo cruciale nell'insorgenza e nella progressione di patologie epatiche metaboliche e colestatiche contribuendo alla regolazione dei processi infiammatori e fibrotici che le caratterizzano. Studi recenti hanno evidenziato il ruolo benefico degli acidi grassi insaturi, quali gli omega 3 che, agendo come antinfiammatori e antisteatosici, rivestono un ruolo protettivo diretto nelle patologie epatiche indotte da alterazioni dell'omeostasi lipidica. L'attività biologica dei FFAs si esplica principalmente attraverso l'interazione con il recettore degli acidi grassi liberi FFAR4 (free fatty acids receptor 4), noto anche come GPR-120 (g-protein coupled receptor 120).

Obiettivi. Nel presente progetto, abbiamo valutato il potenziale effetto benefico del GprA, un nuovo agonista sintetico del GPR-120, in un modello di fibrosi epatica sperimentalmente indotta nei topi attraverso la somministrazione di una dieta Western-style (WSD).

Risultati. Le analisi istologiche hanno evidenziato che il GprA, somministrato alla dose di 90 mg/Kg/die, è in grado di ridurre, in topi alimentati per 30 settimane con WSD, i segni di steatosi e la percentuale di parenchima epatico occupato da infiltrato lipidico. In linea con tali dati, il controllo sulla steatosi esercitato dal GprA è stato confermato dall'analisi trascrizionale del gene per2 (codificante per la perilipina 2, marker dell'accumulo lipidico nella cellula), la cui espressione è risultata ridotta nel gruppo di animali sottoposti al trattamento rispetto al gruppo del veicolo (controllo). Per la valutazione del profilo fibrotico, l'indagine istologica ha rivelato una diminuzione di quest'ultimi nel parenchima epatico degli animali trattati con GprA rispetto al gruppo di controllo. Inoltre, la riduzione del processo fibrotico è stata confermata dalla diminuzione dell'espressione proteica dell'alfa-sma e del gene ccn2, che codifica per il CTGF (connective tissue growth factor). Infine, mediante una valutazione immunohistochimica nonché da analisi con western blot, è stata dimostrata una riduzione dell'espressione del collagene in seguito a trattamento con GprA.

Conclusioni & Prospettive. I nostri dati suggeriscono che un agonista selettivo dei recettori FFAR4, come il GprA, potrebbe rappresentare un candidato promettente per lo sviluppo di un nuovo approccio terapeutico nei confronti di specifiche epatopatie. Gli effetti di tale molecola saranno valutati su ulteriori modelli sperimentali di fibrosi epatica.

STIMA E VALIDAZIONE MEDIANTE MACHINE LEARNING DI UN MODELLO PREDITTIVO DI ETÀ SCHELETRICA PER SOGGETTI IN CRESCITA

Michele Tepedino, Rosa Esposito, Vincenzo Damiano Salpietro, Francesco Masedu

Settore Scientifico Disciplinare (SSD): MED/28

Basi Scientifiche. La corretta stima dell'età scheletrica è una variabile fondamentale, di non facile definizione e da cui prescinde il successo di branche cliniche che intervengono sulla crescita e lo sviluppo dell'apparato scheletrico come in ambito pediatrico, ortopedico ed ortodontico. In tali discipline, il problema della stima dell'età scheletrica ha infatti un ruolo fondamentale: iniziare un trattamento ortodontico e/o ortopedico durante una fase di crescita attiva consente di trarne il maggior vantaggio possibile nel minore tempo possibile.

Obiettivi. Poiché l'età scheletrica raramente corrisponde all'età demografica e i metodi più affidabili per la determinazione della maturazione scheletrica richiedono necessariamente l'esposizione a radiazioni ionizzanti, lo scopo di questo studio è stato quello di creare un modello decisionale categorico che consentisse, attraverso un punteggio probabilistico, di suggerire l'età scheletrica in modo clinicamente pratico, non invasivo, e non dovendo richiedere immagini radiografiche aggiuntive.

Risultati. Il campione selezionato per lo studio ha incluso 111 soggetti di età compresa tra i 6 e i 15 anni. L'età scheletrica è stata classificata secondo 4 categorie definite dal livello di maturazione della falange prossimale del terzo dito della mano destra. L'analisi multivariata ha mostrato un ruolo predittivo del genere ($p < 0.01$) e dell'età cronologica ($p < 0.01$). Il modello ordinale ha mostrato come l'uso dell'altezza ($p = 0,02$) e del peso del paziente ($p = 0,03$) fosse predittivo dell'età scheletrica contro una perdita di significatività statistica corrispondente all'uso dell'indice di massa corporea ($p = 0,60$). I valori di maturazione della sutura palatina mediana ($p = 0,01$) sono risultati predittivi. In conclusione la valutazione combinata di peso, altezza, sesso, età demografica e grado di maturazione della sutura palatina mediana fornisce un modello predittivo per la valutazione dell'età scheletrica senza esami radiografici aggiuntivi, oltre a un'ortopantomografia di routine.

Conclusioni & Prospettive. Pur considerando la stadiazione della seconda falange del terzo dito una variabile di riferimento, un metodo basato su semplici e non invasivi dati biometrici ed un'ortopantomografia – che è un importante esame di screening dal valore clinico superiore ad una radiografia del dito – sarebbero auspicabili studi prospettici a lungo termine per convalidare la stima dell'età scheletrica utilizzando il metodo proposto.

SVILUPPO DI NUOVE STRATEGIE TERAPEUTICHE PER L'INIBIZIONE SELETTIVA DI NF- κ B NEL CARCINOMA DELL'OVAIO

Daniela Verzella, Daria Capece, Francesca Zazzeroni, Monica Di Padova

Settore Scientifico Disciplinare (SSD): MED/46, MED/05

Basi Scientifiche. Il carcinoma dell'ovaio (OvCa) è il terzo tumore ginecologico più diffuso a livello globale. Nonostante i numerosi progressi degli ultimi anni, la percentuale di sopravvivenza a 5 anni dalla diagnosi è del 50% circa, dovuta in molti casi alla diagnosi tardiva della malattia. Molti tumori umani, incluso OvCa, sono caratterizzati dall'iperattivazione di NF- κ B. È noto da tempo che NF- κ B favorisce la tumorigenesi attraverso l'induzione di geni che regolano diverse funzioni biologiche come la sopravvivenza cellulare e l'apoptosi (e.g. GADD45B). Nessun inibitore specifico di NF- κ B è stato approvato per uso clinico a causa dei numerosi effetti collaterali. Lo sviluppo di nuovi inibitori in grado di bloccare effettori a valle della pathway di NF- κ B che ne mediano le funzioni tumorigeniche, ha riscosso successo nell'era della medicina personalizzata. Pertanto, l'inibizione selettiva di NF- κ B rappresenta un potenziale approccio terapeutico per la cura di tumori NF- κ B dipendenti come l'OvCa.

Obiettivi. Il primo obiettivo di questo progetto di ricerca è stato quello di studiare il ruolo di GADD45B nel mediare la funzione pro-sopravvivenza di NF- κ B nell'OvCa. Il secondo obiettivo aveva lo scopo di valutare l'efficacia terapeutica del DTP3 in questo tumore.

Risultati. L'elevata espressione di GADD45B correla con una prognosi infausta nell'OvCa. NF- κ B è costitutivamente espresso in tutte le linee cellulari di OvCa analizzate e la sua inibizione determina una riduzione della crescita cellulare, una riduzione dei livelli di espressione di GADD45B ed un incremento della morte cellulare programmata, confermando che la sopravvivenza di queste cellule dipende dall'azione anti-apoptotica di GADD45B. Data l'importanza dell'asse GADD45B-NF- κ B nella patogenesi dell'OvCa, siamo andati a testare l'efficacia terapeutica del DTP3 nelle linee cellulari in esame. Le analisi molecolari condotte hanno mostrato una riduzione della vitalità cellulare nelle linee primarie di OvCa. Inoltre, abbiamo dimostrato che il DTP3 è in grado di indurre blocco del ciclo cellulare in fase G1 e morte per apoptosi.

Conclusioni & Prospettive. Ulteriori esperimenti sono necessari per validare l'efficacia e confermare il meccanismo d'azione di questo farmaco nelle linee di OvCa sensibili al DTP3.

ANALISI DI ESPRESSIONE DEI MICRORNA CIRCOLANTI IN PAZIENTI AFFETTI DA CARCINOMA MAMMARIO/OVARICO EREDO-FAMILIARE E DA EPATOCARCINOMA

Veronica Zelli, Alesse Edoardo, Tessitore Alessandra

Settore Scientifico Disciplinare (SSD): MED/04

Basi Scientifiche. I microRNA (miRNA) circolanti sono attualmente considerati promettenti biomarcatori di natura epigenetica non invasivi di potenziale utilità clinica, in quanto in grado di fornire precocemente importanti informazioni di carattere predittivo, diagnostico e prognostico.

Obiettivi. Approfondimento del putativo valore diagnostico/predittivo di miRNA target emersi dall'analisi NGS del miRNoma sierico in pazienti affette da carcinoma mammario/ovarico (BC/OC) eredo-familiare, positive (BRCA) o negative (non-BRCA) per mutazioni nei geni di suscettibilità ad alta penetranza BRCA1/2; validazione del ruolo del miR-125a-5p e miR-182-5p nonché analisi di profiling dei miRNA circolanti, in pazienti con danno epatico correlato ad una condizione di progressione NAFLD (steatosi epatica) e stratificati in base alla severità della malattia in steatoepatite (NASH), cirrosi ed epatocarcinoma (HCC).

Risultati. Dei 23 miRNA deregolati nei casi BRCA vs non-BRCA, 14 sono risultati di particolare interesse in quanto differenzialmente espressi in maniera significativa anche rispetto ai controlli sani o confermati come deregolati nel dataset esterno di validazione GSE9818. L'analisi delle curve ROC ha mostrato buoni livelli di accuratezza diagnostica per ciascuno di essi (AUC > 70%, p-value <0.05) ed una maggiore accuratezza nel discriminare i casi non-BRCA sia rispetto ai BRCA che ai controlli, è stata osservata effettuando analisi combinate di più miRNA.

Il profiling dei miRNA circolanti in pazienti con danno epatico, ha confermato il trend di espressione del miR-125a-5p e miR-182-5p precedentemente osservato ed evidenziato ulteriori miRNA down-regolati in NASH/cirrosi/HCC vs controlli (miR-28-5p, miR-190a-5p, miR374b-5p) (i). MiR-224-5p è risultato inoltre up-regolato in NASH rispetto agli altri gruppi in studio (ii), mentre livelli crescenti di espressione in controlli, NASH, cirrosi e HCC sono stati osservati per miR-122-5p e miR-382-5p (iii).

Conclusioni & Prospettive. Nel complesso i risultati ottenuti hanno portato all'identificazione di miRNA- signatures, caratterizzate da elevata accuratezza, con putativo valore diagnostico/predittivo nel BC/OC ereditario non-BRCA. Sono inoltre emersi miRNAs con possibile ruolo di biomarcatori non specifici di danno epatico (i), possibile ruolo di biomarcatori precoci di danno epatico (NASH) (ii) e caratterizzati da livelli di espressione correlati alla progressione del danno epatico (iii) nei pazienti NAFLD, il cui significato biologico e putativo valore clinico necessita ulteriori approfondimenti.



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DELL'AQUILA



DISCAB
Dipartimento di Scienze
Cliniche Applicate
e Biotecnologiche