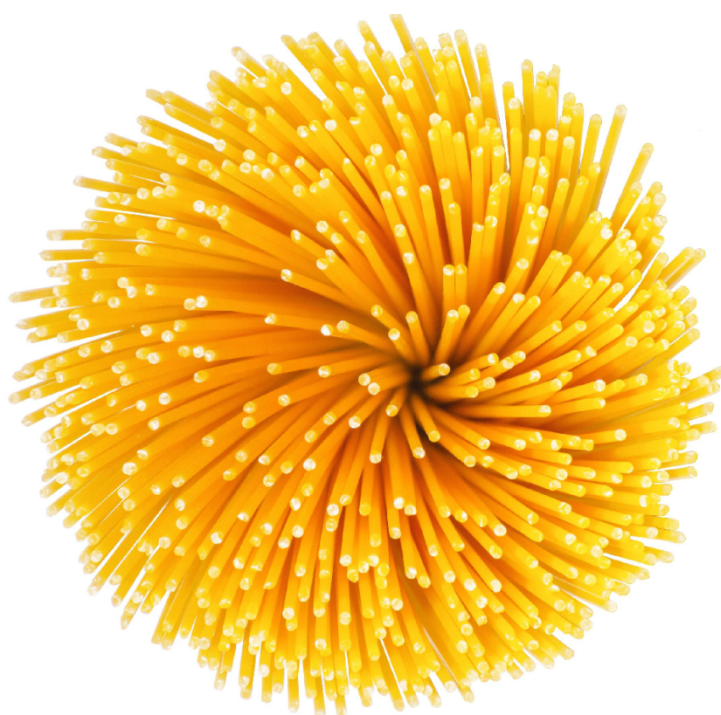


7. LINEA SALUTE

LINEA

SALUTE





WP Studio dell'esposoma e sui biomarcatori di malattia in Basilicata ed approccio one health (SEB)

PARTE A

LINEA DI AZIONE (SPUNTARE LA CASELLA CORRISPONDENTE)

1.SEZIONE: TECNICO OPERATIVA:

- Ambiente
- Salute**
- Socio-Culturale

2.STRUTTURE E FORMAZIONE

- Realizzazione, riconversione e potenziamento di strutture regionali
- Formazione professionale specialistica

1. ANAGRAFICA SOGGETTO PARTECIPANTE

Denominazione	Dipartimento di Scienze della Salute, UNIBAS		
Status	<input checked="" type="checkbox"/> Università <input type="checkbox"/> Ente pubblico di Ricerca <input type="checkbox"/> Ente privato di Ricerca <input type="checkbox"/> Agenzia di Formazione <input type="checkbox"/> SME <input type="checkbox"/> Laboratorio di analisi e monitoraggio <input type="checkbox"/> Altro, specificare		
Sede legale (indirizzo)	Via Nazario Sauro, 85, 85100 Potenza (PZ)		
Sede operativa (indirizzo)	Via dell'Ateneo Lucano, 10, 85100 Potenza (PZ)		
Responsabile scientifico del progetto	Nome Giuseppe Terrazzano	Email giuseppe.terrazzano@unibas.it	Tel XXXXXXXXXX
Logo dell'organizzazione			
Sito web dell'organizzazione	https://portale.unibas.it/site/home.html		

2. TIPOLOGIA DI ATTIVITÀ

X Studi	<input checked="" type="checkbox"/> Determinanti ambientali <input type="checkbox"/> Aria <input type="checkbox"/> Acqua <input checked="" type="checkbox"/> Suolo
----------------	---

	<p>X Ecosistemi</p> <p>X Determinanti sanitari</p> <p><input type="checkbox"/> determinanti socio-culturali, antropologiche ed economiche</p> <p><input type="checkbox"/> Altro</p>
X Indagini	<p>X Chimiche</p> <p><input type="checkbox"/> Fisiche</p> <p>X Biologiche molecolari</p> <p>X Biologiche cellulari</p> <p>X Cliniche</p> <p>X Retrospective</p> <p>X Prospettive</p> <p>X Caso-Controllo</p> <p>X Coorte</p>
X Monitoraggio	<p><input type="checkbox"/> Ambientale</p> <p>X Sanitario</p> <p><input type="checkbox"/> Sociale</p> <p><input type="checkbox"/> Altro = Biomarcatori ambientali</p>
<input type="checkbox"/> Formazione	<p><input type="checkbox"/> Scuola di Alta Formazione</p> <p><input type="checkbox"/> Corsi specialistici</p> <p><input type="checkbox"/> Master</p> <p><input type="checkbox"/> Dottorati e Assegni di Ricerca</p> <p><input type="checkbox"/> Formazione professionale</p> <p><input type="checkbox"/> Long Life Learning</p> <p><input type="checkbox"/> Altro</p>
X Prevenzione	<p>X Presidi territoriali</p> <p>X Ambulatori specialistici</p> <p>X Centri Screening</p> <p>X Campagne di prevenzione</p> <p><input type="checkbox"/> Altro__</p>
X Interventi strutturali	<p>X Potenziamento laboratorio di.....</p> <p>X Acquisizione strumenti ed attrezzature</p> <p><input type="checkbox"/> Ambulatori specialistici</p> <p><input type="checkbox"/> Centri Screening</p>

PARTE B

1. BREVE DESCRIZIONE DELL'INTERVENTO

Le qui descritte attività si propongono come primo obiettivo quello dello studio sull'esposoma nella popolazione lucana: in particolare, sui biomarcatori di malattia, sull'analisi sistematica dei fattori genetici e non, sulle alterazioni cellulari e molecolari (come insieme di studi "omici") coinvolte direttamente nell'eziopatogenesi e/o complessivamente correlabili quali fattori eziologici e/o di comorbidità all'esposizione agli inquinanti ambientali diffusi sul territorio (WP1). Ulteriore obiettivo specifico sarà quello della valutazione "one health" su biomarcatori in ambito veterinario, entomologico e microbiologico (WP2). Infine, sarà condotta una valutazione sull'effetto degli inquinanti ambientali sul profilo sensoriale delle popolazioni lucane (WP3).

Nello specifico del campione di soggetti sani e/o pazienti, come evidenziato nel Preliminare del Progetto LucAS, saranno oggetto delle valutazioni le popolazioni residenti nelle aree geografiche indicate nel progetto per i potenziali effetti sullo stato di salute e/o per l'emergenza di specifiche patologie correlabili ai potenziali determinanti di inquinamento ambientale.

2. Tipologia di intervento

- Ricognizione e sistematizzazione delle informazioni ambientali relative alle aree regionali a maggiori criticità ambientali (All. 1) con potenziali ripercussioni sanitarie.
- Ricognizione e sistematizzazione delle informazioni sullo stato di salute della popolazione lucana, nelle aree già individuate con maggiori criticità ambientali (All. 1).**
- Integrazione dello stato conoscitivo delle criticità ambientali nelle aree prescelte (All. 1).
- Integrazione dello stato conoscitivo delle criticità sanitarie nelle aree prescelte (All.1).**
- Caratterizzazione socio-demografica delle aree a rischio già individuate
- Ricognizione e sistematizzazione delle informazioni sulla percezione del rischio nonché sulla sua costruzione sociale
- Integrazione dello stato conoscitivo dei modelli comportamentali
- Ricognizione e integrazione informazioni sull'accesso alla prevenzione**
- Promozione della salute come forma di prevenzione**
- Ricognizione e integrazione informazioni sull'accesso ai servizi e alle strutture di cura**
- Cittadinanza sanitaria attiva**
- Altro-----

3-5 Keywords: Esposoma, biomarcatori di malattia, approccio one health

Descrizione della proposta

3. DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INTERVENTO

PREMESSE GENERALI

L'inquinamento ambientale rappresenta uno dei problemi più rilevanti per la salute umana (1). In tal senso, l'ambiente e la salute pubblica identificano una significativa interdipendenza. L'Organizzazione mondiale della sanità (OMS) nella relazione *"Preventing disease through healthy environments: a global assessment of the burden of disease from environmental risks"* stima che un quarto delle malattie e delle morti siano attribuibili a fattori ambientali. Nel 1992, il report dell'OMS riportava che *"La salute umana, in ultima analisi, è funzione della capacità delle società di gestire l'interazione tra le attività umane e l'ambiente fisico e biologico in modo tale da garantire e promuovere la salute senza incidere sulla integrità dei sistemi naturali dai quali dipendono l'ambiente fisico e biologico medesimo"*. La consapevolezza scientifica dell'interdipendenza tra ambiente e salute ha determinato specifiche politiche di monitoraggio delle matrici ambientali, quali aria, acqua, suolo, così come la valutazione e l'identificazione di biomarcatori, e la sorveglianza degli ecosistemi al fine di attuare il controllo costante dello stato di salute delle popolazioni. L'inquinamento dell'aria e dell'acqua è frequentemente causato dall'uso eccessivo delle risorse naturali, ad un tasso superiore alla capacità della natura di rigenerarsi (2). In concomitanza con l'aumento dell'inquinamento ambientale, le componenti degli inquinanti si accumulano gradualmente nel corpo (dell'uomo e degli animali), compresi gli idrocarburi policiclici aromatici (HPA) come 7,12-dimetilbenz[a]antracene (DMBA), benzo[a]pirene e 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-diossina (TCDD), nonché i metalli pesanti cadmio e mercurio (1). Recenti studi hanno rivelato che le concentrazioni di tali inquinanti nell'organismo possono superare la soglia per nuocere alla salute, soprattutto nei paesi in via di sviluppo e, in tal senso, si stima che il tasso di mortalità, per alcune malattie non trasmissibili attribuibili all'inquinamento, oggi raggiunga il 20-25% (1-3). I PHA si formano principalmente attraverso processi pirolitici, in particolare attraverso la combustione incompleta della materia organica, derivano in gran parte da attività industriali, traffico veicolare, combustione della legna, estrazione e sfruttamento del petrolio e derivati, fumo di tabacco (1-3). Mentre il consumo di cibo è stato identificato come la principale via di assunzione di HPA (4), la quantità di inquinanti nell'ambiente è aumentata anche sotto forma di particolato (PM) nell'aria (5) e nelle micro e nanoplastiche (MP/NP) in acqua (6). È storicamente noto che gli HPA e i metalli pesanti siano adsorbiti sulle superfici di PM e siano quindi in grado di entrare nel corpo, penetrando facilmente nelle barriere epiteliali, accumulandosi nel grasso per lungo tempo (a causa della loro natura altamente lipofila) e, quindi, esercitando la loro tossicità (7,8).

L'esposoma e i biomarcatori di malattia. Un recente articolo scientifico, pubblicato sulla prestigiosa rivista internazionale *Science* (9) riporta che “*Il concetto di esposoma, insieme ai recenti progressi tecnologici, ha il potenziale per identificare i contributori ambientali alla salute e alle malattie in modo complementare a quanto è stato reso possibile con gli studi sul genoma*”. Il concetto di **esposoma** è stato definito nel 2005 dall'epidemiologo Christopher Wild, al fine di indicare la globalità dell'esposizione ambientale a partire dalle origini della vita (10). L'esposoma, infatti, rappresenta l'insieme dei fattori ambientali e degli agenti patogeni ai quali ciascun individuo è esposto nel corso della sua vita fin dal momento del concepimento (11). Nonostante le numerose prove che l'esposizione a sostanze chimiche specifiche possa incidere significativamente nel determinismo di malattie (1-3), gli attuali approcci di ricerca e le politiche normative non riescono ad affrontare la complessità chimica del nostro mondo (12). Al fine di salvaguardare le generazioni attuali e future dal numero crescente di sostanze chimiche che inquinano il nostro ambiente, è necessario un approccio scientifico ed auspicabilmente agnostico. È, pertanto, necessario uno sforzo concertato e sistematico per profilare i fattori non genetici associati alla malattia e agli esiti sulla salute, giacché sono ancora insufficienti le conoscenze per ridurre il rischio crescente delle malattie cronico-degenerative nelle società (9). L'esposoma, in tal senso, evidenzia l'importanza di studiare la diversità e l'intera gamma possibile di esposizioni: dalle sostanze chimiche di origine naturale a quelle derivate dalle attività antropiche produttive, alle filiere agro-alimentare a quelle della produzione animale per la nutrizione, dai fattori fisici e biologici a quelli psicosociali, nonché alle loro corrispondenti e compressive risposte biologiche degli organismi viventi e, in definitiva, dell'uomo. In tale ambito, già nel 2010, *Rappaport e Smith* descrivono un aspetto interessante dal punto di vista epidemiologico: ““Gli effetti tossici sono mediati da sostanze chimiche che alterano le molecole critiche, le cellule e i processi fisiologici all'interno del corpo. Sotto questo punto di vista, le esposizioni non sono limitate alle sostanze chimiche (tossiche) che entrano nel corpo dall'aria, dall'acqua o dal cibo, per esempio, ma anche includono sostanze chimiche prodotte da infiammazione, stress ossidativo, perossidazione lipidica, infezioni, flora intestinale e altri processi naturali” (13).

La biodiversità come biomarcatore della salute e l'approccio “one health”. Gli studi sulla biodiversità, oltre a fornire informazioni sul mantenimento delle risorse ambientali e sullo sviluppo sostenibile, possono determinare *il monitoraggio dei biocomponenti degli ecosistemi reattivi all'inquinamento per la stima di deviazione da situazioni normali che potenzialmente impattano sulla salute della popolazione umana* (14). In tale ambito, sono definiti quali bioindicatori, tutti i biocomponenti (gli organismi viventi o interi sistemi biologici) utilizzati per valutare una modificazione della qualità dell'ambiente, poiché sono collegati, direttamente o indirettamente, a un fattore, o a un complesso di fattori, le cui variazioni si ripercuotono sull'organismo stesso, attraverso il quale è possibile rilevarli (15-17). In tal senso, la valutazione di animali da reddito, dell'artropoda fauna e delle popolazioni microbiche del suolo può rappresentare uno studio specifico ed informativo dell'impatto degli inquinanti ambientali sulla salute della popolazione umana.

Le alterazioni sensoriali come indicatori della tossicità ambientale. L'esposizione agli inquinanti ambientali può causare una serie di alterazioni sensoriali e chemosensoriali. I meccanismi che determinano la disfunzione chemiosensoriale, imputabile agli inquinanti ambientali, coinvolgono principalmente lo stress ossidativo, l'infiammazione e l'apoptosi, oltre a meccanismi sensoriali specifici che interessano la trasduzione del segnale olfattivo e modulatorio correlati al funzionamento olfattivo (18). Pertanto, la valutazione delle alterazioni sensoriali può restituire informazioni consistenti in merito al danno degli inquinanti ambientali sulla salute umana.

1) OBIETTIVI GENERALI E SPECIFICI

2) OBIETTIVI GENERALI

L'attività antropica, in termini di realizzazione ed esercizio di una qualsiasi tipologia, può esercitare impatti complessivi, diretti e indiretti, sulla salute della popolazione oltre che sull'ambiente. Le valutazioni propedeutiche alle autorizzazioni del caso devono tenere in opportuno ed analitico conto di tutti i fattori di pressione e di quelli potenzialmente soggetti a impatti ambientali, con particolare riferimento alla salute umana ed animale. L'effetto conseguente all'accezione “*soggetti potenzialmente esposti*” non è assolutamente irrilevante, poiché riposiziona il processo di valutazione dalla stima dell'entità dell'impatto al concetto più articolato e complesso di rischio conseguente all'esposizione a determinati fattori di pressione ambientale.

Pertanto, l'obiettivo generale del progetto è quello di innescare ed alimentare un processo virtuoso, ma al tempo stesso strutturato, in grado di attivare un sistema che consenta di migliorare, nel tempo, il livello di conoscenza degli impatti e dei rischi sulla componente Salute connessi alle dinamiche dello stato ambientale di riferimento. In tale contesto, appare opportuno il realizzarsi di un monitoraggio continuo e puntuale dell'impatto dei potenziali inquinanti ambientali sullo stato di salute delle popolazioni residenti sul territorio lucano.

In tale scenario, le attività qui descritte intendono contribuire alla definizione di un modello integrato di gestione dei processi di conoscenza, condivisione, informazione e partecipazione che consenta di acquisire un quadro chiaro e ben delineato dello stato di salute delle popolazioni alla luce di ogni livello di esposizione ed alla definizione di interventi appropriatamente correttivi, in coerenza con quanto riportato nel Preliminare LucAS per le seguenti fattispecie attuative:

- a. correlare le patologie emergenti nelle specifiche aree di interesse (come definite nel documento di indirizzo della Regione Basilicata) alle possibili eziopatogenesi ed alla presenza di biomarcatori riconducibili all'esposoma;

- b. Correlare i determinanti ambientali derivati da attività antropiche all'emergenza di patologie cronico-degenerative nelle suddette aree di interesse;
- c. Studiare la biodiversità come biomarcatore della salute e l'approccio "one health", come valutazione dell'impatto degli inquinanti ambientali;
- d. Analizzare le alterazioni sensoriali come indicatori di tossicità ambientale;
- e. Contribuire al perfezionamento diagnostico, prognostico e di applicazione terapeutica sui dati analitici emergenti dallo studio LucAS e nella complessiva attuazione del progetto, congiuntamente agli Enti coinvolti;
- f. Contribuire all'analisi epidemiologica geografica, nella complessiva attuazione del progetto e congiuntamente agli Enti coinvolti;
- g. Contribuire all'analisi epidemiologica molecolare, nella complessiva attuazione del progetto e congiuntamente agli Enti coinvolti;
- h. Contribuire alla realizzazione di un Polo di Ricerca, "diffuso" sul territorio regionale, e di Formazione Professionale dotato di aule multimediali, di ambulatori specialistici, e laboratori Clinici, Chimici, Biotecnologici e Eco-Tossicologici all'avanguardia tecnico scientifica, nella complessiva attuazione del progetto e congiuntamente agli Enti coinvolti;
- i. Promuovere, congiuntamente agli Enti coinvolti nell'attuazione del progetto, un sistema che consenta di migliorare, nel tempo, il livello di conoscenza degli impatti e dei rischi sulla componente Salute connessi alle dinamiche dello stato ambientale di riferimento;
- j. Condividere, congiuntamente agli Enti coinvolti nell'attuazione del progetto, le azioni di *governance* finalizzate al miglioramento e le performances di sostenibilità ambientale e di benessere delle comunità;
- k. Contribuire, congiuntamente agli Enti coinvolti nell'attuazione del progetto, a realizzare strumenti di *governance* territoriali, includendo gli stakeholder istituzionali (scientifici, tecnici, amministrativi) e sociali (imprese, cittadini, associazioni) della Regione Basilicata;

INTERAZIONI COLLABORAZIONI CON ALTRI SOGGETTI PARTECIPANTI:

Al fine del raggiungimento degli obiettivi e delle finalità del complessivo Progetto LucAS, saranno promosse collaborazioni con gli eventuali Enti coinvolti per specifica competenza tematico-scientifica.

OBIETTIVI SPECIFICI (DECLINATI NEI WPS A SEGUIRE)

Obj1: studio correlativo tra le patologie emergenti nelle specifiche aree di interesse (come definite nel documento di indirizzo della Regione Basilicata), le possibili eziopatogenesi e la presenza di biomarcatori riconducibili all'esposoma;

Obj2: Analisi dell'esposizione ai determinanti ambientali derivati da attività antropiche ed emergenza di patologie cronico-degenerative nelle suddette aree di interesse.

Obj3: Studio sulla biodiversità come biomarcatore della salute e l'approccio "one health", come valutazione dell'impatto degli inquinanti ambientali;

Obj4: Applicazione di tecniche di biomonitoraggio in aree a particolare rischio ambientale.

Obj5: Analisi delle alterazioni sensoriali come indicatori di tossicità ambientale.

WP1: MARCATORI PROGNOSTICO-DIAGNOSTICO E DI ANDAMENTO DI MALATTIA IN CAMPIONI DELLA POPOLAZIONE LUCANA

Responsabile scientifico: Prof. Giuseppe Terrazzano, Dipartimento di Scienze della Salute (DiSS), Università della Basilicata (UniBas)

Obiettivi specifici:

Obj1: studio correlativo tra le patologie emergenti nelle specifiche aree di interesse (come definite nel documento di indirizzo della Regione Basilicata), le possibili eziopatogenesi e la presenza di biomarcatori riconducibili all'esposoma;

Obj2: Analisi dell'esposizione ai determinanti ambientali derivati da attività antropiche ed emergenza di patologie cronico-degenerative nelle suddette aree di interesse.

In tale ambito complessivo, le qui descritte attività si propongono come obiettivo specifico del Progetto LucAS lo studio sistematico sull'esposoma nella popolazione lucana. Nello specifico del **WP1**, saranno condotti studi sui biomarcatori di malattia, sull'analisi sistematica dei fattori genetici e non, sulle alterazioni cellulari e molecolari (come insieme di studi "omici") coinvolte direttamente nell'eziopatogenesi e/o complessivamente correlabili quali fattori eziologici e/o di comorbidità all'esposizione agli inquinanti ambientali diffusi sul territorio. Ciò, potrà auspicabilmente contribuire ad alimentare il profilo di conoscenza sistematica nel determinismo di malattia della popolazione residente nelle aree

individuare dal Progetto LucAS, nella comparazione con il dato complessivo sanitario della popolazione lucana. Nello specifico delle indagini correlate al WP1, sarà coinvolto nello studio un campione di popolazione rappresentativo dei residenti nelle specifiche zone lucane individuate dal Progetto. In particolare, come evidenziato nel Preliminare del Progetto LucAS, saranno verosimilmente e ragionevolmente destinatari delle valutazioni le coorti (appropriatamente reclutate per dimensione, età e sesso ai fini della più corretta corrispondenza al piano dell'analisi statistica da applicare) di soggetti sani e/o pazienti residenti nelle aree geografiche indicate nel progetto LucAS per i potenziali effetti sullo stato di salute e/o per l'emergenza di specifiche patologie correlabili. In particolare, saranno attenzionate le popolazioni potenzialmente sottoposte alla presenza di tricloroetilene nelle matrici suolo e acqua (SIN di TITO SCALO), alla presenza e distribuzione di mercurio nei suoli e nel sottosuolo (SIN DI FERRANDINA), ai contaminanti tipici della filiera degli idrocarburi (Tecnoparco-Val Basento), al particolato atmosferico (black carbon e differenziazione tra sorgenti naturali e antropiche) ed ai contaminanti tipici della filiera degli idrocarburi (VAL D'AGRI-COVA e VALLE DEL SAURO-TEMPA ROSSA), all'amianto naturale (tremolite) ed ai metalli pesanti (cromo esavalente) (POLLINO-AREA NORD-OCCIDENTALE), alla radioattività naturale e antropica (CENTRO ENEA-TRISAIA), alle contaminazioni da attività antropiche (TERMOVALORIZZATORE RENDINA-ITM); CEMENTIFICIO BARILE E MATERA; FERRIERA DI POTENZA; VALLE DEL MERCURE).

WP2: APPROCCIO "ONE HEALTH"

Responsabile scientifico: Prof. Giovanni Salzano, Dipartimento di Scienze della Salute (DiSS), Università della Basilicata (UniBas)

Obiettivi specifici:

Obj3: Studio sulla biodiversità come biomarcatore della salute e l'approccio "one health", come valutazione dell'impatto degli inquinanti ambientali;

Obj4: Applicazione di tecniche di biomonitoraggio in aree a particolare rischio ambientale.

Lo studio sarà rivolto alla valutazione "one health" sui potenziali biomarcatori in ambito veterinario, entomologico e microbiologico nelle aree geografiche sopraindicate. Nello specifico del **WP2**, l'intento dello studio è correlato alla necessità di condurre valutazioni ed analisi su alcuni animali da allevamento residenti nel territorio lucano, sugli insetti e sui microbi del suolo, quale approccio di studio sull'impatto dei determinanti ambientali di inquinamento nell'ecosistema lucano complessivamente inteso. In particolare, il WP2 dello studio effettuerà: 1) la valutazione immuno-epidemiologica di malattie infettive di animali da allevamento (ovi-caprini); 2) il Biomonitoraggio dell'artropodofauna; 3) Il Biomonitoraggio delle specie microbiche del suolo. In tali ambiti, I risultati sperimentali potrebbero essere utili per evidenziare gli effetti di ambienti inquinati sulla salute umana in un approccio "One health", nell'intento di evincere, al di là di eventuali effetti diretti sul benessere, la risposta biologica ed il grado di resilienza degli organismi coinvolti agli insulti inquinanti accertati nelle specifiche aree di interesse. Nello specifico delle indagini oggetto del WP2, le zone di prelievo e studio (nelle matrici di suolo e acqua, in insetti e microbi, negli animali da allevamento) saranno verosimilmente e ragionevolmente: nei Siti di Interesse Nazionali di TITO SCALO E VALBASENTO, in VAL D'AGRI-COVA, nella VALLE DEL SAURO-TEMPA ROSSA, nel CENTRO ENEA-TRISAIA, al TERMOVALORIZZATORE RENDINA-ITM, nella VALLE DEL MERCURE e, come controllo, da zone limitrofe alle aree geografiche su menzionate.

WP3: APPROCCIO "ANALISI SENSORIALE"

**COINVOLGERE TUTTI ENTI CHE SI OCCUPANO DI SALUTE IN LUCAS
ARPAB IN PARTICOLARE UNITÀ OPERATIVA ODORIGENI**

Responsabile scientifico: Prof.ssa Fernanda Galgano, Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali, Alimentari ed Ambientali (DAFE), Università della Basilicata (UniBas)

Obiettivi specifici:

Obj5: Analisi delle alterazioni sensoriali come indicatori di tossicità ambientale.

Sarà condotta una valutazione sull'effetto degli inquinanti ambientali sul profilo sensoriale delle popolazioni lucane residenti nelle aree geografiche su menzionate. Le attività previste dal **WP3** potranno fornire un quadro relativo alle

disfunzioni di gusto e olfatto della popolazione lucana, valutandone la correlazione con la presenza di inquinanti ambientali causati da attività estrattive di petrolio, di lavorazione dei metalli, dalla presenza di impianti di depurazione o presenza naturale di amianto.

Nello specifico delle indagini oggetto del WP3, sarà coinvolto nello studio un campione di popolazione rappresentativo dei residenti nelle specifiche aree geografiche individuate dal Progetto e di tutti gli abitanti della Basilicata.

A. METODOLOGIA

1) TIPOLOGIA DI INDAGINI

Le attività di studio del **WP1** saranno svolte su campioni biologici (sangue venoso periferico e campioni fecali, etc), provenienti da soggetti sani e pazienti (vedi successivo punto sulla Tipologia e dimensione del soggetto campione) e su colture cellulari stabili. Lo studio sarà svolto a mezzo di metodiche standard ed avanzate della biologia cellulare e molecolare, della biochimica, dell'immunologia cellulare e molecolare, della genetica molecolare, della farmacologia cellulare e molecolare, della microbiologia e della entomologia (vedi descrizioni specifiche riportate nelle singole TASKS del paragrafo C- Implementazione). Le strumentazioni impiegate sono riportate specificamente nella descrizione dei WP e delle TASKs (vedi successivo paragrafo C- Implementazione). Il reclutamento di soggetti e pazienti sarà gestito ed esercitato dai Servizi Istituzionali Regionali della Medicina Territoriale (Aziende Sanitarie di Potenza e Matera -ASP-ASM), nel rispetto della vigente normativa sanitaria regionale e nazionale.

Le attività del **WP2** saranno svolte su popolazioni di animali da allevamento (ovi-caprini) presenti nelle zone limitrofe alle aree geografiche su menzionate e/o in zone non correlabili ad, su popolazioni di insetti e microbi del suolo delle zone limitrofe alle aree geografiche su menzionate e/o in zone non correlabili ad esse (vedi descrizioni specifiche riportate nelle singole TASKS del paragrafo C- Implementazione).

Le attività del **WP3** prevedranno l'iniziale somministrazione dei questionari e la successiva esecuzione di test relativi al gusto (vedi descrizione specifica nel successivo paragrafo C- Implementazione).

Per tutti i WP, i laboratori di ricerca coinvolti saranno riferibili al Dipartimento di Scienze (DiS) ed alla Scuola di Scienze Agrarie, Forestali, Alimentari ed Ambientali (SAFE) dell'Università degli Studi della Basilicata (UniBas), presso il Campus di Macchia Romana, Via dell'Ateneo Lucano 10, 85100 Potenza (PZ).

2) NOTA SULLA TIPOLOGIA E SULLA DIMENSIONE DEL CAMPIONE DEI SOGGETTI SANI E DEI PAZIENTI DA ARRUOLARE (COORTI DI OSSERVAZIONE) RELATIVI AL WP1 (TASKS 1.1, 1.2, 1.4, 1.7, 1.9, 1.10, 1.12)

Premesse EX ANTE al reclutamento di pazienti. 1) La tipologia di reclutamento di pazienti, per le specifiche caratteristiche nosologiche, sarà direttamente dipendente dai rilievi sulle patologie occorrenti sui territori suddetti, già registrate (come riportato nel precedente paragrafo sui DATI SCIENTIFICI DISPONIBILI IN REGIONE) e/o emergenti e, in ogni caso, rivenienti dal monitoraggio istituzionale operato dai Dipartimenti Sanitari Regionali. In tale scenario, per la specifica determinazione/selezione di pazienti da arruolare sarà dirimente il dato epidemiologico sulla morbosità ospedaliera, rilevata per il tramite delle Schede di dimissione ospedaliera (SDO), e sulla mortalità desunta dagli archivi dell'Istituto nazionale di Statistica (ISTAT); 2) Saranno, altresì, utilizzati i dati pregressi ed emergenti dal Registro dei Tumori della Basilicata (gestito dall'IRCSS-Centro Ricerca Oncologica Basilicata, Rionero in Vulture, PZ) e da altre fonti informative, quali ad esempio il Registro Nazionale delle Malattie Rare; 3) Il reclutamento di soggetti e pazienti sarà gestito ed esercitato dai Servizi Istituzionali Regionali della Medicina Territoriale (Aziende Sanitarie di Potenza e Matera -ASP-ASM), nel rispetto della vigente normativa sanitaria regionale e nazionale.

TIPOLOGIA

Ciò premesso, le principali categorie di pazienti oggetto dello studio sono potenzialmente e sinteticamente ascrivibili a quelle affette dalle malattie oncologiche (tumore della prostata, del polmone, del colon, della vescica, della mammella, del corpo dell'utero e della tiroide, patologie oncoematologiche quali leucemie, linfomi e mielomi), dalle patologie non tumorali ad eziologia multifattoriale quali le malattie cardiache e cardiovascolari, da ischemie d'organo (cuore, cervello, polmone, rene, etc), da patologie del sistema respiratorio nel loro complesso (in particolare per le Infezioni acute delle vie respiratorie, polmonite, asma, asbestosi, pneumoconiosi), dalle malattie dell'apparato urinario e del tratto gastro-intestinale, dalle malattie infiammatorie e cronico-degenerative, immunomediate ed autoimmunitarie, allergiche, neurodegenerative (si veda la specifica descrizione nel paragrafo C-IMPLEMENTAZIONE). I pazienti saranno soggetti residenti nelle zone limitrofe alle aree geografiche individuate dal progetto e, come caso-specifico di controllo, soggetti residenti in zone non correlate ai potenziali rischi ambientali riportati nel progetto LucAS.

DIMENSIONE DEL CAMPIONE

Ai fini dell'esecuzione di analisi statistiche appropriate e dirimenti relative al **WP1**, si stima di reclutare un numero di pazienti non inferiori ai 100 per area geografica individuata, suddivisi secondo le descrizioni delle singole TASKS nel paragrafo C-IMPLEMENTAZIONE. Nello specifico delle indagini oggetto del **WP2**, le zone di prelievo e studio (nelle matrici di suolo e acqua, in insetti e microbi, negli animali da allevamento) saranno verosimilmente e ragionevolmente: nei Siti di Interesse Nazionali (SIN) di TITO SCALO, VALBASENTO, in VAL D'AGRI-COVA, nella VALLE DEL SAURO-TEMPA ROSSA, al CENTRO ENEA-TRISAIA, al TERMOVALORIZZATORE RENDINA-ITM, nella

VALLE DEL MERCURE e, come controllo, da zone limitrofe alle aree geografiche su menzionate. Nello specifico delle indagini oggetto del **WP3**, sarà coinvolto nello studio un campione di popolazione rappresentativo dei residenti nelle specifiche zone individuate dal Progetto e di tutti gli abitanti della Basilicata.

B. IMPLEMENTAZIONE (WORKPLAN)

WP1 TITOLO E SINTESI DEGLI OBIETTIVI: MARCATORI PROGNOSTICO-DIAGNOSTICO E DI ANDAMENTO DI MALATTIA IN CAMPIONI DELLA POPOLAZIONE LUCANA

Responsabile scientifico: Prof. Giuseppe Terrazzano, Dipartimento di Scienze della Salute (DiSS), Università della Basilicata (UniBas)

Tale WP rappresenta:

Obj1- uno studio correlativo tra le patologie emergenti nelle specifiche aree di interesse (come definite nel documento di indirizzo della Regione Basilicata), le possibili eziopatogenesi e la presenza di biomarcatori riconducibili all'esposoma;

Obj2- Un'analisi dell'esposizione ai determinanti ambientali derivati da attività antropiche ed emergenza di patologie cronico-degenerative nelle suddette aree di interesse.

In tale scenario tematico, il **WP1** ha la finalità di condurre su soggetti lucani, stratificati per età e sesso, stato di salute e per associazione a disordini e comorbidità evidenziate all'anamnesi e rivenienti dal dato epidemiologico-statistico sul territorio lucano, un'analisi sui potenziali biomarcatori molecolari e cellulari espressi dalla popolazione e riconducibili all'effetto tossico dei determinanti di inquinamento delle matrici acqua, aria e suolo nelle specifiche aree individuati nel progetto preliminare. In tal senso, saranno considerati marcatori genetici, proteomici, metabolomici, indici di infiammazione, immunopatogenicità, immunometabolismo, endocrinopatie, danno renale, cardiaco, vascolare, epatico, gastro-intestinale, e di rischio oncologico. Infine, sarà condotta l'analisi del microbiota intestinale in soggetti sani e in individui affetti da specifiche patologie e/o comorbidità. A tal fine, il WP1 sarà articolato in Task (come da descrizioni a seguire).

Milestones:

- Correlazione dell'esposizione cronica della popolazione lucana ai determinanti dell'inquinamento ambientale;
- Analisi del determinismo eziopatogenetico di malattie correlate all'esposizione ambientale ed emergenti sul territorio lucano;

Deliverables (vedi anche paragrafo 3- Impatto):

- Impiego di specifici biomarcatori esposomici per il monitoraggio dell'impatto dei determinanti ambientali di tossicità sulla salute dei lucani;
- Realizzazione di un sistema di monitoraggio dell'andamento di malattie da danno ambientale;
- Ottimizzazione delle tecniche diagnostiche da implementare nella sorveglianza attiva della medicina territoriale.

Indicatori di progresso

Individuazione di biomarcatori esposomici correlabili all'emergenza di patologie umane sul territorio. Possibile sistematizzazione progressiva, nell'arco dei 5 anni, e, trasferimento di conoscenze e metodologie, ai dipartimenti sanitari territoriali sull'eziopatogenesi da potenziale esposizione ai determinanti ambientali.

DIPARTIMENTI E PERSONALE UNIBAS COINVOLTO:

DiSS= Dipartimento di Scienze della Salute

- Prof.ssa Maria Francesca Armentano
- Prof. Faustino Bisaccia
- Prof. Vincenzo Brancaleone
- Prof.ssa Maria Grazia Bonomo
- Prof.ssa Monica Carmosino
- Prof.ssa Vittoria Infantino
- Prof. Michele Manfra
- Prof. Luigi Milella
- Prof. Giovanni Salzano
- Prof. Giuseppe Terrazzano

DiSBA= Dipartimento di Scienze di Base ed Applicate

- Prof. Rocco Rossano
- Prof.ssa Simona Todisco

INTERAZIONI COLLABORAZIONI CON ALTRI SOGGETTI PARTECIPANTI: Al fine del raggiungimento degli obiettivi e delle finalità del complessivo Progetto LucAS saranno promosse collaborazioni con eventuali altri Enti, diversi dall'UniBas, coinvolti per specifica competenza tematico-scientifica.

Il WP1 si articolerà nell'arco temporale di 60 mesi nelle seguenti TASKS:

TASK 1.1-Marcatori di risposta immune e di immuno-regolazione

Background

Negli ultimi decenni, è stata prestata una crescente attenzione ai ruoli che gli inquinanti ambientali svolgono nello sviluppo e nell'aumento della frequenza di malattie immunologiche, quali quelle correlate all'immunosoppressione, all'allergia e all'autoimmunità (19-27). La letteratura scientifica evidenzia sempre più consistentemente la rilevanza sulla patogenesi sottostante e sugli effetti immunotossici degli inquinanti ambientali negli esseri umani. In tal senso, è stato osservato che l'esposizione agli agenti inquinanti determina l'emergenza di malattie polmonari immuno-mediate (19-27). Inoltre, è da tempo noto che una varietà di sostanze chimiche ambientali rappresenta il potenziale per danneggiare i componenti del sistema immunitario (19-27). I PHA, gli HAH, incluso TCDD, grazie alla presenza diffusa di specifici recettori cellulari per le sostanze aromatiche (HAR) (19-27) possono impattare sulle cellule del sistema immunitario, alterando significativamente le funzioni specifiche. PHA, HAH, TCDD, arsenico, piombo, cadmio ed altre sostanze sono in grado di determinare l'emergenza di numerose affezioni in cui è riconoscibile una base immuno-mediata (quali le malattie infiammatorie ed autoimmunitarie), riducono la resistenza alle infezioni, incrementano il rischio di sviluppare malattie neoplastiche e, complessivamente, altereranno la capacità omeostatica e regolatoria del sistema immunitario (19-30). Obiettivi. L'obiettivo complessivo di tale attività sarà lo studio di marcatori cellulari e molecolari della disregolazione della risposta immunitaria innata ed adattiva (28). Le coorti osservate saranno relative a soggetti sani e pazienti affetti dalle specifiche patologie evidenziate all'anamnesi e rivenienti dal dato epidemiologico-statistico sul territorio lucano, sia provenienti dalle zone limitrofe alle aree geografiche individuate dal progetto, sia da zone non correlabili per vicinanza alle aree indicate quali potenzialmente a rischio ambientale.

Metodologie

Nello specifico, le attività di ricerca prevedranno la caratterizzazione fenotipica e funzionale (28-30) di Linfociti T effettori (T CD8+ Citotossici e T CD4+ Helper) e regolatori (T CD4+ FoxP3+, TR3-56, Th17), di cellule Natural Killer (NK) e Natural Killer T (NKT) su sangue venoso periferico (per le categorie di soggetti sani e pazienti stratificate nel progetto LucAS). In particolare, i linfociti T saranno analizzati per ampiezza numerica/percentuale e per attività funzionale (proliferazione per simulazione antigene-specifica, citotossicità, secrezione citochine). In merito alla secrezione, sarà valutata la produzione di citochine pro- (INF-gamma, TNF-alpha, IL-17, IL-6) ed anti-infiammatorie (IL-4, IL-10, TGF-beta) in seguito a stimolazione che simula l'attivazione antigenica (anticorpo monoclonale anti-CD3) e la trasduzione del segnale (esteri del forbolo, PMA) per incubazioni temporali crescenti (12,24,48 ore) (28-30). I linfociti NK saranno valutati per l'espressione di citotossicità e per la produzione di citochine (IFN-gamma) in seguito a stimolazione con esteri del forbolo (PMA). I linfociti NKT saranno valutati per la produzione di citochine pro- (INF-gamma) ed anti-infiammatorie (IL-4). Inoltre, saranno studiati i livelli di fosforilazione dell'enzima S6-Chinasi, principale bersaglio molecolare dell'attività della molecola **mammalian Target of Rapamicine (mTOR)** (31-33) in Linfociti CD4+ e/o CD8+. Tutte le valutazioni indicate saranno condotte a mezzo di tecniche citofluorimetrica a flusso combinate con metodiche di immunofluorescenza (28-30).

Risultati attesi

Lo studio potrà, auspicabilmente, correlare l'esposizione cronica della popolazione lucana ai determinanti dell'inquinamento ambientale (per gli aspetti della letteratura scientifica già nota e per quelli individuati contestualmente agli studi ambientali del Progetto LucAS) alle alterazioni della risposta immunitaria e della sua regolazione, al fine di comprenderne l'eventuale determinismo eziopatogenetico immuno-mediato di malattie emergenti sul territorio lucano, monitorarne l'andamento e, potenzialmente, ottimizzare le potenziali ed occorrenti terapie specifiche.

Responsabile: Prof. G. Terrazzano

TASK 1.2-Biomarcatori dell'immunometabolismo

Background

La presente attività ha la finalità di studiare il ruolo dell'immunometabolismo in patologie la cui eziopatogenesi può essere correlata a fattori riconducibili all'inquinamento ambientale, come rivenienti dal dato epidemiologico-statistico sul territorio lucano (per gli aspetti della letteratura scientifica già nota e per quelli individuati contestualmente agli studi ambientali del Progetto LucAS). Partendo dalle alterazioni del metabolismo energetico e dallo stress ossidativo ad esso correlato, provocati da diversi inquinanti ambientali, l'immunometabolismo consente di definire il quadro fenotipico delle cellule del sistema immunitario inducendo una risposta cellulare che può rappresentare il presupposto scientifico per l'individuazione di un nuovo "biomarker ambientale" (34,35). La natura multifattoriale dello sviluppo di alcune patologie, da quelle infiammatorie croniche alle neoplasie, rende estremamente complesso correlare l'insorgenza alle esposizioni chimiche nell'ambiente. Numerosi fattori ambientali influenzano lo stato infiammatorio e possono avere un ruolo nel promuovere l'insorgenza di patologie infiammatorie. In questo contesto, investigare l'effetto su specifici target cellulari e molecolari diventa fondamentale per comprendere l'eziopatogenesi e la fisiopatologia delle malattie. Alcuni agenti chimici, in tal senso, hanno dimostrato di poter favorire i processi infiammatori inducendo la produzione di mediatori dell'infiammazione, tra i quali NO, PGE2 (36). Inoltre, l'esposizione ad inquinanti ambientali promuove cambiamenti nel metabolismo e modificazioni epigenetiche, come l'acetilazione istonica, che influenzano espressione di proteine target portando ad un aumento dello stress ossidativo e di citochine proinfiammatorie (37). Recentemente l'attività di ricerca del gruppo coinvolto nella TASK 1.2 ha dimostrato che in macrofagi attivati da LPS, il pathway del citrato è essenziale per la produzione proprio di mediatori dell'infiammazione quali NO, ROS e PGE₂ (34,35) e per la modulazione del profilo di espressione genica (34,35).

Obiettivi

I target specifici su cui si focalizzerà l'attenzione della TASK 1.1 sono il pathway del citrato ed i fattori trascrizionali strettamente correlati con tale pathway (34,35,38) in patologie infiammatorie croniche del tratto respiratorio, quali l'asma, in patologie cardiovascolari e nelle neoplasie polmonari rivenienti dal dato epidemiologico-statistico sul territorio lucano (per gli aspetti della letteratura scientifica già nota e per quelli individuati contestualmente agli studi ambientali del Progetto LucAS).

Metodologia

L'attività avrà lo scopo di quantificare le proteine del pathway del citrato e i fattori trascrizionali correlati in macrofagi isolati da campioni di sangue periferico di soggetti sani e pazienti provenienti dalle aree specificate nel progetto, selezionati in relazione al genere ed all'età, come rivenienti dal dato epidemiologico-statistico sul territorio lucano. Un secondo approccio parallelo sarà quello di studiare l'effetto sul pathway del citrato da parte di specifici inquinanti ambientali, noti o individuati dagli altri attori della presente attività di ricerca, mediante saggi *in vitro* su colture cellulari di monociti/macrofagi. Anche in questo caso l'attenzione sarà focalizzata sul pathway del citrato e sui fattori trascrizionali correlati.

Responsabili: Prof.ssa. V. Infantino, Prof.ssa S.

Todisco

TASK 1.3- Profilo di tossicità funzionale dei contaminanti ambientali identificati su cellule endoteliali, cellule del sangue e vasi isolati

Background

Gli inquinanti ambientali sono frequentemente catalogati come agenti cancerogeni per le loro capacità di indurre neoplasie. Negli ultimi anni la ricerca di materiali non genotossici ha portato all'utilizzo di componenti o miscele di essi che però presentano una scarsa conoscenza di tossicità rispetto a diversi organi e tessuti. Allo stesso modo, prove epidemiologiche sostanziali mostrano che le esposizioni ambientali a inquinanti metallici xenobiotici (es. cadmio, piombo e arsenico) sono associate a maggiori rischi di patologie cardiovascolari tardive, tra cui aterosclerosi, ipertensione e disfunzione endoteliale (39-41). Pertanto, si evidenzia la necessità di valutare l'effetto dei possibili determinanti tossici su modelli *in vitro* ed *ex vivo* in grado di evidenziare effetti a livello vascolare associabili a fenomeni di tossicità. Obiettivo ulteriore della TASK 1.3 è quello di individuare biomarcatori in sangue e urine che possano essere associati alle specifiche patologie evidenziate all'anamnesi e rivenienti dal dato epidemiologico-statistico sul territorio lucano (per gli aspetti della letteratura scientifica già nota e per quelli individuati contestualmente agli studi ambientali del Progetto LucAS), nonché essere prognostici di evoluzione delle suddette patologie in seguito al trattamento farmacologico. Pertanto, tale attività promuoverà lo screening *in vitro*, *in vivo* ed *ex vivo* per la valutazione del profilo di tossicità funzionale dei contaminanti ambientali identificati su cellule endoteliali, cellule del sangue e vasi isolati;

Metodologie

Per i saggi cellulari verranno utilizzate cellule endoteliali di origine bovina, ampiamente caratterizzate su cui verrà valutato l'effetto tossico delle molecole individuate (42-45). In particolare, verrà valutata la capacità di produzione di ossido nitrico (NO) e acido solfidrico (H₂S), trasmettitori che regolano la funzione vasodilatante e che rappresentano fondamentali indici di funzione endoteliale (46). Verranno inoltre utilizzate cellule del sangue periferico di donatori sani

la cui tossicità verrà identificata attraverso analisi citofluorimetrica, con la quantificazione del grado di attivazione cellulare (CD11b) e formazione di complessi multicellulari (neutrofili/piastrine) in seguito ad esposizione agli agenti tossici individuati (47,48). Infine, verranno utilizzati vasi isolati (aorta e carotide di topo) su cui verrà valutata la funzionalità vascolare in seguito ad esposizione agli agenti tossici individuati (49,50). L'esposizione potrà essere acuta (direttamente a contatto con il vaso isolato) oppure sistemica (sommministrata in vivo, per valutarne l'effetto sistemico). In particolare, verrà utilizzato un sistema per organi isolati con trasduttori di forza associati ad un sistema di visualizzazione ed elaborazione dati (PowerLab, ADInstruments).

Risultati attesi

Tale attività di ricerca/screening consentirà di valutare il profilo concentrazione-risposta funzionale su cellule endoteliali, cellule immunitarie e vasi isolati per ogni inquinante o classi di inquinanti individuati (chimico e/o biologico). Particolare attenzione sarà rivolta agli inquinanti derivanti dall'estrazione e raffinazione del petrolio (idrocarburi), all'amianto naturale (tremolite) ed artificiale ed ai derivati delle plastiche delle microplastiche, specie quelli non normati come i copolimeri ciclici dell'olefina (COC). Quindi verranno classificati gli inquinanti in clusters, a seconda delle tipologie di effetti determinati: 1) induzione di disfunzione endoteliale, associata ad una riduzione di NO e H₂S; - attivazione delle cellule immunitarie con conseguente danno infiammatorio; 2) alterazioni della funzionalità vascolare in termini variazione di risposta contrattile o vasodilatante. Tale modello valuta per ogni inquinante gli endpoint fisiologici vascolari ed infiammatori critici *in vitro* ed *in vivo/ex vivo*. Per gli studi *in vitro/ex vivo* verrà identificata una concentrazione tossica 50 (TC₅₀, concentrazione alla quale si ottiene un effetto pari al 50% dell'effetto massimo) per ogni sostanza o classi di sostanze. Per gli studi *in vivo* verrà identificata una dose tossica 50 (TD₅₀, dose alla quale l'effetto è presentato dal 50% degli animali) per ogni sostanza o classi di sostanze. Questo valore sarà confrontato con i valori di esposizione nei siti studiati per una proiezione dell'effetto reale sull'uomo.

Responsabile: Prof. V. Brancaleone

TASK 1.4. Approcci di esposomica per la definizione di nuovi marker prognostici e diagnostici associabili al rischio di patologie oncologiche del tratto gastro-intestinale

Background

Le patologie tumorali del tratto gastro-intestinale sono le più comuni nei paesi sviluppati. In tali casi, nonostante non vi sia una storia familiare di alterazioni genetiche, i contributi dell'ambiente esterno giocano un ruolo fondamentale nello sviluppo di tali patologie in particolare associate alla dieta (51). A tale riguardo, inquinanti di natura chimica, che possono contaminare alimenti e/o acque di impiego alimentare, rappresentano una consolidata minaccia per la salute umana e sono positivamente correlati all'insorgenza di patologie ad elevato impatto sociale, come il cancro al colon-retto (CRC). Gli idrocarburi policiclici aromatici (PAHs) sono una famiglia ubiquitaria di contaminanti ambientali, che entrano in circolo mediante consumo di alimenti contaminati o acqua potabile, così come dall'esposizione ad ambienti o luoghi di lavoro contaminati (52,53). Tali contaminanti sono largamente associati alle attività dell'industria petrolifera, di raffinazione e dell'automotive. Nonostante le patologie correlate all'esposizione dei PAHs più conosciute siano il carcinoma polmonare e quello alla mammella, sono crescenti le evidenze scientifiche che li correlano a patologie oncologiche del tratto digestivo. Risulta crescente la necessità di approcci che permettano di identificare ed associare contaminanti noti ed emergenti con il rischio e la tendenza allo sviluppo di patologie tumorali (54).

Obiettivi

Obiettivo generale dell'attività sarà l'impiego di approcci di esposomica per la definizione di nuovi marker prognostici e diagnostici associabili al rischio di patologie oncologiche del tratto gastro-intestinale, come rivenienti dal dato epidemiologico-statistico sul territorio lucano. Le coorti osservate saranno relative a soggetti sani e pazienti affetti patologie oncologiche del tratto gastro-intestinale e rivenienti dal dato epidemiologico-statistico sul territorio lucano, sia provenienti dalle zone limitrofe alle aree individuate dal progetto, sia da zone non correlabili per vicinanza alle stesse aree. Nello specifico, la TASK 1.4 sarà focalizzata sui seguenti obiettivi:

OS1: Sviluppo ed applicazione di tecniche di esposomica per l'identificazione rapida di contaminanti noti ed emergenti. Scopo di quest'obiettivo sarà l'applicazione di tecniche combinate basate sull'impiego della spettrometria di massa per la rivelazione in campioni ambientali e biologici di contaminanti ambientali noti ed emergenti. L'obiettivo prevederà l'ottimizzazione in modalità high-throughput di tecniche ifenate (UHPLC-HRMS, GC-MS, UHPLC-FLD) sia di tipo targeted che di tipo untargeted per l'identificazione e la quantificazione di contaminanti in matrici alimentari (alimenti), ambientali (acqua, suolo, aria) e biologici (biofluidi e tessuti). L'impiego di tecniche combinate permetterà l'allestimento di una library di contaminanti noti ed emergenti da monitorare per la valutazione del livello di contaminazione in specifiche zone regionali e nazionali (55).

OS2: Valutazione del metaboloma in seguito all'esposizione acuta e cronica di contaminanti noti ed emergenti. I pannelli di contaminanti precedentemente definiti saranno oggetto di valutazione in sistemi biologici (*in vitro*) per l'identificazione dell'alterazione di meccanismi molecolari correlati alla carcinogenesi. Nello specifico modelli *in vitro*

di linee cellulari del tratto gastro-intestinale saranno trattati con contaminanti noti ed emergenti, e verranno eseguite analisi metabolomiche per identificare nel dettaglio specifici pathways molecolari alterati in seguito ad esposizione acute o croniche ai contaminanti ambientali identificati.


OS3: Biomonitoraggio rapido ed impiego di tecniche di machine learning per l'identificazione di nuovi fattori di rischio. I pannelli di contaminanti precedentemente definiti saranno oggetto esteso di analisi quali-quantitative per lo screening su larga scala dei livelli di contaminazione in diverse popolazioni e correlazione con i livelli di contaminazione territoriale. A tale scopo verranno impiegati biofluidi derivati da soggetti residenti nelle aree geografiche esplicitate nel progetto, per la creazione di signature di esposizione ed impiego di tali pannelli per l'addestramento (training) di modelli di classificazione e loro successivo impiego ai fini predittivi (test) mediante modelli di ensemble machine learning. Le *signature* così ottenute saranno sottoposte a validazione con dataset di popolazioni in territori diversi per stabilire la validità dei modelli predittivi e l'impiego come strumenti diagnostici e prognostici per valutare l'incidenza dei livelli di contaminanti sull'insorgenza di patologie oncologiche del tratto gastro-intestinale (56).

Metodologie

Lo studio vedrà l'uso di approcci innovativi, quali tecniche di esposomica basate sulla spettrometria di massa unitamente all'impiego dell'intelligenza artificiale per il biomonitoraggio rapido e per la creazione di nuovi indici di rischio associabili all'esposizione ad agenti chimici e loro impiego per l'allestimento di tool statistici predittivi.

Risultati attesi

Sviluppo di tecniche analitiche rapide per il biomonitoraggio, elucidazione dei meccanismi molecolari endogeni alterati in modelli cellulari di tumore gastro-intestinale di seguito all'esposizione di contaminanti ambientali, la creazione di *signature* di esposizione.

Responsabile: Prof. M. Manfra, 

TASK 1.5. Individuazione di potenziali marcatori di cardiotoxicità.

Background

Nonostante le attuali stime colleghino almeno il 25% di tutti i casi di malattie cardiovascolari alle esposizioni ambientali, le identità degli agenti causali ed il loro meccanismo d'azione rimangono in gran parte sconosciuti (57). Gli attuali approcci preclinici per le valutazioni cardiotoxiche delle sostanze chimiche inquinanti si basano quasi esclusivamente su modelli animali con limitazioni significative in termini di costo e complessità degli studi. Per valutare effetti cardiotoxici sub-letali di un'ampia gamma di inquinanti sono stati messi a punto nuovi approcci *in vitro* che fanno affidamento su test funzionali *high-throughput* molto sensibili, in grado di identificare non solo il tipico effetto citotossico ma anche l'incremento della mortalità cellulare (58). Questi saggi rivelano infatti perturbazioni sub-citotossiche della normale elettrofisiologia cellulare e delle vie biochimiche intracellulari dei cardiomiociti che possono avere un impatto sulla contrattilità e sulla funzione dell'intero organo.

Obiettivi

Screening *in vitro* in sistema high-throughput per il profilo di cardiotoxicità funzionale dei contaminanti ambientali identificati rivenienti dal dato epidemiologico-statistico sul territorio lucano (per gli aspetti della letteratura scientifica già nota e per quelli individuati contestualmente agli studi ambientali del Progetto LucAS).

Metodologie

Per i saggi cellulari verranno utilizzati cardiomiociti murini immortalizzati HL-1 che sono un modello *in vitro* particolarmente interessante in quanto formano un monostrato a battito sincrono spontaneo che può essere seguito in live imaging (59). Il metodo di analisi è fluorimetrico, high-throughput e si basa sul monitoraggio delle oscillazioni di Ca^{2+} intracellulare, specchio dell'attività elettrica sulla membrana plasmatica di tali cardiomiociti. I cardiomiociti verranno seminati in piastre da 96 pozzetti per fluorescenza (nere con fondo trasparente) ed esposti per 30 min (simulazione di contatto in acuto) o per 24h (simulazione di contatto in cronico) a diverse concentrazioni delle sostanze identificate. Le concentrazioni da testare saranno decise in funzione delle concentrazioni identificate nei siti esaminati. I cardiomiociti verranno poi incubati con una sonda fluorescente per il Ca^{2+} citosolico e le oscillazioni di Ca^{2+} intracellulari verranno monitorate nello strumento FlexStation 3 reader di Molecular Devices (<https://www.moleculardevices.com/en/assets/app-note/dd/img/explore-cardiac-function-by-measuring-calcium-oscillation-or-contraction-patterns>). Questo approccio è suscettibile di valutazione quantitativa multiparametrica. Verrà valutato l'effetto dose-dipendente sulla frequenza della contrazione (BR), l'ampiezza del battito (BAMP) e l'irregolarità della frequenza del battito (BRI). In paralleli esperimenti di imaging verranno valutati gli effetti delle sostanze in esame sulla vitalità cellulare e sull'effetto depolarizzante sul potenziale di membrana mitocondriale grazie all'uso sonde

specifiche per la vitalità cellulare come Calcein AM e per il potenziale mitocondriale come JC-10. La depolarizzazione mitocondriale è infatti un segnale precoce di danno ipossico o stress ossidativo a livello cardiaco.

Risultati attesi

L'attività consentirà di ottenere un profilo di concentrazione-risposta funzionale sui cardiomiociti per ogni inquinante o classi di inquinanti (tipo fisico, chimico, biologico) rivenienti dal dato epidemiologico-statistico sul territorio lucano. Particolare attenzione sarà rivolta agli inquinanti derivanti dall'estrazione e raffinazione del petrolio (idrocarburi), all'amianto naturale (tremolite) ed artificiale ed ai derivati delle plastiche specie quelli non normati come i copolimeri ciclici dell'olefina (COC). Quindi verranno classificati gli inquinanti in clusters con effetto meramente citotossico sulla vitalità dei cardiomiociti, o con effetto stimolante piuttosto che inibente la frequenza del battito dei cardiomiociti, con effetto aritmogenico e quelli con effetto sull'attività mitocondriale. Questo modello valuta per ogni inquinante gli endpoint fisiologici cardiaci critici *in vitro* che sono facilmente traslabili *in vivo*. Verrà identificata una dose efficace *in vitro* (dose alla quale si ottiene un effetto pari al 50% dell'effetto massimo) per ogni sostanza o classi di sostanze. Questo valore sarà confrontato con i valori di esposizione nei siti studiati per una proiezione di un reale effetto *in vivo*.

Responsabile: Prof.ssa M. Carmosino

TASK 1.6. Monitoraggio e prevenzione dei processi di citotossicità e di carcinogenesi in cellule polmonari ed intestinali indotti dall'inquinamento ambientale

Background

Negli ultimi anni particolare attenzione è stata rivolta ai possibili rischi ambientali e per la salute umana causati dagli inquinanti generati durante le estrazioni petrolifere in Basilicata, sede del più grande giacimento europeo di petrolio sulla terraferma. L'esposizione costante a tremolite o miscele di idrocarburi aromatici policiclici (PAH) può essere implicata infatti nell'insorgenza e nello sviluppo di patologie fra cui il cancro, malattie respiratorie nonché intestinali (60). Inoltre, è noto che carenze nutrizionali possono incrementare gli effetti patogenici degli agenti inquinanti. Ad esempio, vitamine antiossidanti come la vitamina C ed E sono tradizionalmente utilizzate come mezzi per rafforzare le difese immunitarie contro i fattori di stress ambientali (61) e prove sperimentali suggeriscono che i composti polifenolici, largamente presenti in un'ampia varietà di specie vegetali, possono fornire una maggiore protezione contro gli inquinanti ambientali (62). Alla luce di queste evidenze è quindi importante monitorare e prevedere il danno causato dagli inquinanti e, nello stesso tempo, individuare composti di origine naturale sicuri ed efficaci, da testare su modelli cellulari al fine di valutare il loro utilizzo nella prevenzione e/o trattamento di patologie indotte da agenti inquinanti.

Obiettivi

Gli obiettivi dell'attività saranno rivolti alla valutazione degli effetti protettivi di sostanze naturali nei riguardi degli effetti tossici e cancerogeni dei contaminanti identificati dalle attività di LucAS o già noti. Diverse sostanze naturali saranno introdotte nelle prove di laboratorio allo scopo di verificare il loro effetto preventivo e/o curativo (62,63).

Metodologie

Differenti linee cellulari umane polmonari ed intestinali possono essere selezionate come sistemi modello *in vitro* allo scopo di predire una potenziale citotossicità di tali sostanze nocive sull'uomo e i risultati saranno confrontati con sostanze naturali di natura polifenolica per verificare il grado di tossicità nel primo caso e di prevenzione di tale citotossicità nel secondo. Sarà valutato l'effetto citotossico, ossia la capacità di agenti nocivi di indurre la morte cellulare, tramite saggi *in vitro* quale l'MTT (bromuro di 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio). Saranno condotti dei saggi complementari di citofluorimetria quali la valutazione della produzione di Specie Reattive dell'Ossigeno (ROS), la depolarizzazione delle membrane mitocondriali, apoptosi e analisi del ciclo cellulare, o ancora test relativi alla frammentazione del DNA, allo scopo di individuare i potenziali meccanismi coinvolti nella tossicità. Il possibile danno ossidativo può essere indotto sia per l'aumento dei livelli di radicali liberi dell'ossigeno (ROS), sia per l'esaurimento delle fonti antiossidanti tra cui l'enzima superossido-dismutasi (SOD), la glutatione-perossidasi (GPx), la catalasi (CAT) etc. Pertanto, saranno valutati lo stress ossidativo e la capacità totale antiossidante mediante test colorimetrici high-throughput (FOX-2 assay). Tra i test di valutazione specifici dell'attività cancerogena di un agente inquinante usati nella pratica clinica degni di nota sono: il *comet assay* sul polmone (come organo primo esposto) e sull'intestino, il test del micronucleo sul midollo osseo e il test di mutazione del gene Pig-A su sangue periferico. In particolar modo, il *comet assay* test è eseguito nell'ambito delle esposizioni acute e subacute (1 mese); si tratta di un test che funge da marker di esposizione, pertanto è più rilevante eseguirlo dopo un breve periodo di trattamento. I test di mutazione del micronucleo e del gene Pig-A, come marker di effetti, vengono invece effettuati in seguito ad esposizione subacuta (1 mese) e subcronica (3 mesi). Tali saggi verranno condotti sui modelli cellulari di polmone ed intestino e verranno effettuati in parallelo alla valutazione dell'attività benefica di specie vegetali e/o metaboliti secondari di origine naturale utilizzabili a scopo preventivo.

Risultati attesi

Le attività di tale task permetteranno a) di identificare gli effetti citotossici e cancerogeni degli inquinanti ambientali rivenienti dal dato epidemiologico-statistico sul territorio lucano (per gli aspetti della letteratura scientifica già nota e per quelli individuati contestualmente agli studi ambientali del Progetto LucAS) su modelli cellulari di polmone ed intestino b) individuare specie vegetali e/o metaboliti secondari di origine naturale in grado di spiegare un'azione cito-protettiva a seguito della esposizione degli inquinanti oggetto di studio.

Responsabile: Prof. L. Milella

TASK 1.7. Microbiota intestinale

Background

I microrganismi intestinali influenzano l'assorbimento dei nutrienti e la regolazione energetica, partecipano al recupero di energia dalla fibra alimentare. In tale occorrenza, la quantità di acidi grassi nel sangue si riduce e ciò contrasta l'aumento di peso. Le alterazioni di tale complesso ecosistema rende disponibile per l'ospite una maggiore quantità di energia (64,65). Il microbiota possiede enzimi inducenti idrolisi e fermentazione dei polisaccaridi, altrimenti indigeribili, che aumentano l'energia disponibile sotto forma di acidi grassi a catena corta. Lo stato infiammatorio può essere esacerbato dai batteri intestinali produttori di lipopolisaccaridi che inducono risposte immunitarie e predispongono all'infiammazione cronica. La microflora modula i peptidi intestinali che sono prodotti delle cellule endocrine dell'intestino e che controllano il metabolismo energetico, il senso di sazietà e la risposta immunitaria. L'infiammazione cronica è associata all'insorgenza di diverse patologie (64,65). Il microbiota umano è esposto all'azione di contaminanti ambientali e di sostanze presenti negli alimenti che ne possono influenzare la varietà, la vitalità e la funzionalità. Alcuni effetti dell'ambiente sul microbiota sono caratterizzati da importanti implicazioni sul benessere generale del nostro organismo. L'esposizione a inquinanti ambientali può condurre a variazioni del microbiota umano instaurando una disbiosi generalizzata che correla con l'incidenza di una serie di patologie di natura immunitaria (atopie), metabolica (obesità), neuroevolutiva (autismi) (64-66). Preservare lo stato di benessere del nostro microbiota è, quindi, un tema più complesso della semplice scelta preferenziale di alimenti ricchi in fibra alimentare, che rappresenta come è noto il substrato metabolico preferito dai batteri intestinali. Si deve allargare probabilmente alla tutela ambientale, in senso lato, e includere un'attenzione maggiore a tutte le sostanze inquinanti che utilizziamo in maniera più o meno appropriata, e che stiamo sversando nel nostro mondo. Una ricca letteratura indica che i fattori ambientali interagiscono con il microbioma umano e ne influenzano la composizione e le funzioni contribuendo alla patogenesi delle malattie in diverse sedi del corpo. A seconda del tipo di inquinante, dell'intensità e della frequenza di esposizione il microbiota potrebbe esercitare un'azione protettiva o aumentare la tossicità e la risposta infiammatoria. Dai dati raccolti durante uno studio emerge un possibile ruolo protettivo del microbiota contro alcuni dei composti tossici che possono essere assunti per via alimentare; tale effetto protettivo potrebbe esplicarsi proprio attraverso una regolazione dello stato infiammatorio. Gli inquinanti sembrano indurre una disbiosi funzionale che altera l'equilibrio tra metaboliti anti-infiammatori e metaboliti pro-infiammatori e una spiegazione è che il microbiota interviene nel metabolismo degli xenobiotici. I rischi corsi dalle cellule intestinali in seguito all'esposizione agli inquinanti non dipenderebbero quindi solo dall'effetto di questi ultimi sulle cellule, ma anche da quello dei composti prodotti dal microbiota in seguito all'esposizione a queste sostanze. A seconda del tipo di inquinante, dell'intensità e della frequenza di esposizione il microbiota potrebbe esercitare un'azione protettiva o aumentare la tossicità e la risposta infiammatoria (68). Anche l'esposizione cronica al particolato ambientale modifica la diversità e l'abbondanza del microbiota; la disbiosi microbica intestinale porta alla colonizzazione di agenti patogeni e alla crescita di patogeni che facilitano le malattie infettive. Inoltre, provoca cambiamenti dei metaboliti innescando disfunzioni metaboliche (68).

Obiettivi

Obiettivo di questa task è la caratterizzazione del microbiota intestinale di soggetti sani e di pazienti affetti dalle specifiche patologie evidenziate all'anamnesi e rivenienti dal dato epidemiologico-statistico sul territorio lucano (per gli aspetti della letteratura scientifica già nota e per quelli individuati contestualmente agli studi ambientali del Progetto LucAS), sia provenienti dalle zone limitrofe alle aree individuate dal progetto, sia da zone non correlabili per vicinanza alle stesse aree.

Metodologie

La presente attività prevede la caratterizzazione del microbiota intestinale dei soggetti oggetto di studio, mediante il sequenziamento del suo genoma (microbioma) per valutare la sua composizione e le differenze qualitative e quantitative tra i soggetti anche in relazione ai livelli di esposizione a sostanze inquinanti, al fine di stabilire il grado di rischio a sviluppare patologie correlabili a disfunzioni del microbiota intestinale. Per valutare la frazione attiva e vitale del microbiota, e quindi la funzionalità dei vari gruppi microbici, sarà utilizzato un approccio meta-trascrittomico, basato sul sequenziamento massivo dell'intero RNA estratto dai campioni (mRNA, RNA-sequencing). L'annotazione funzionale delle sequenze e l'analisi dell'abbondanza dei trascritti consentiranno di valutare l'espressione

e la regolazione dei geni in risposta a determinate sostanze inquinanti. Inoltre, verrà analizzato anche il volatoloma del microbiota di soggetti esposti a diversi inquinanti, per valutare la produzione di composti organici volatili (VOC, *Volatile Organic Compounds*) mediante gascromatografia-spettrometria di massa (GC-MS).

Responsabili: Prof.ssa M. G. Buonomo, Prof. G. Salzano,

TASK 1.8-Marcatori genomici

Le attività previste sono correlate alla identificazione/validazione di profili genomici associati alle specifiche patologie evidenziate all'anamnesi e rivenienti dal dato epidemiologico-statistico sul territorio lucano (per gli aspetti della letteratura scientifica già nota e per quelli individuati contestualmente agli studi ambientali del Progetto LucAS) al fine di individuare uno strumento molecolare/diagnostico/prognostico (su base genomica) da applicarsi in azioni di screening sia su base predittiva, sia di incidenza della malattia. Le azioni di ricerca queste saranno indirizzate a correlare la base eziopatogenetica immunomediata allo sviluppo di malattie cronico-degenerative (patologie infiammatorie, autoimmunitarie, reumatiche). Nello specifico, previa applicazione di schemi sperimentali atti a strutturare analisi genomica differenziale, su sangue periferico e siero di pazienti saranno applicati marcatori molecolari, già individuati o di nuova identificazione (IL-1, IL-6; IL-10, FTO, MC4R, Nesfatin-1) (72-77), potenzialmente associati alle patologie evidenziate all'anamnesi e rivenienti dal dato epidemiologico-statistico sul territorio lucano. Le coorti osservate saranno relative a soggetti sani e pazienti affetti dalle specifiche patologie evidenziate all'anamnesi e rivenienti dal dato epidemiologico-statistico sul territorio lucano, sia provenienti dalle zone limitrofe alle aree geografiche individuate dal progetto, sia da zone non correlabili per vicinanza alle suddette aree. Contestualmente, sarà sviluppato un algoritmo conferendo agli stessi un coefficiente (score) di suscettibilità. L'applicazione di tali marcatori consentirà di sviluppare un indice numerico che associato ad altri elementi diagnostici, consentirà di stimare il rischio e pertanto in forma indiretta, se applicato su base territoriale, divenire uno strumento in grado di indirizzare e modulare le azioni preventive e terapeutiche per ridurre l'incidenza delle patologie cronico-degenerative sulla popolazione lucana, al fine di ridurre la spesa pubblica del Sistema Sanitario Regionale.

Responsabili: Prof. V. Brancaleone, M. Carosino, L. Milella, G. Terrazzano,

TASK 1.9-Marcatori di danno cellulare

La finalità di tale specifica attività è rappresentata dallo studio sul reticolo endoplasmatico (ER), quale organello centrale nelle cellule, responsabile del ripiegamento e del *trafficking* delle proteine, della sintesi dei lipidi e dell'omeostasi del calcio cellulare (78-80). Nello specifico, un numero crescente di studi ha dimostrato che ER stress (ERS) e la *Unfolded Protein Response* (UPR) che ne consegue sono associati a cambiamenti fisiopatologici e metabolici, tra cui obesità, diabete di tipo 2, dislipidemie, aterosclerosi, malattie cardiache ed epatiche, disturbi neurodegenerativi e cancro. Pertanto, a mezzo di tecniche proteomiche e immunochimiche su sangue periferico e/o siero di pazienti affetti dalle specifiche patologie evidenziate all'anamnesi e rivenienti dal dato epidemiologico-statistico sul territorio lucano (per gli aspetti della letteratura scientifica già nota e per quelli individuati contestualmente agli studi ambientali del Progetto LucAS), saranno valutati biomarcatori cellulari (URG7) e/o circolanti (quali, GRP78, PDI-A4) (78-80) intimamente collegati a tali meccanismi di ERS/UPR, fornendo un mezzo minimamente invasivo per la diagnosi precoce e il trattamento specifico di questi disturbi. Le coorti osservate saranno relative a soggetti sani e pazienti affetti dalle specifiche patologie evidenziate all'anamnesi e rivenienti dal dato epidemiologico-statistico sul territorio lucano, sia provenienti dalle zone limitrofe alle aree individuate dal progetto, sia da zone non correlabili per vicinanza alle su citate aree.

Responsabili: Prof.ssa.M. F. Armentano, Prof. F. Bisaccia,

TASK 1.10. Rivalutazione del rischio sulla salute umana di sostanze inquinanti presenti nei siti industriali della Basilicata

Nonostante la Basilicata sia una regione con pochi insediamenti industriali, i lucani "percepiscono" molto il peso di un rischio ambientale soprattutto in prossimità dei siti di estrazione petrolifera, degli insediamenti industriali siderurgici e dei cementifici. In questi siti le emissioni di sostanze tossiche per la salute umana e animale sono continuamente controllate e permettono di monitorare il grado di inquinamento ambientale prodotto dall'attività industriale rispetto a valori soglia di inquinanti considerati non tossici. Sebbene questo modo di procedere sia corretto dal punto di vista legale e ambientale, non sempre è un metodo scientificamente valido per correlare l'inquinamento prodotto con il danno alla salute umana e animale. Infatti, la tossicità delle sostanze inquinanti su sistemi biologici varia se esse si trovano in miscela tra loro, a causa di vari fenomeni metabolici ed epigenetici (81-83). La TASK 1.11 propone un'attività di verifica che valuti la tossicità di singoli inquinanti (come H₂S, NO, SO₂, NO₂, O₂⁻, metalli pesanti, idrocarburi aromatici, composti clorurati) e miscele, in vitro su varie linee cellulari umane. Saggi di vitalità cellulare saranno eseguiti su cellule epatiche,

polmonari, neuronali e intestinali mediante saggi spettrofotometrici. Saranno anche condotte analisi morfologiche e di stabilità genetica.

Responsabili: Prof. F. Bisaccia, Prof.ssa. F. Armentano

WP2 TITOLO E SINTESI DEGLI OBIETTIVI: APPROCCIO “ONE HEALTH”

Responsabile scientifico: Prof. Giovanni Salzano, Dipartimento di Scienze della Salute (DiSS), Università della Basilicata (UniBas)

Obiettivi specifici:

Obj3: Studio sulla biodiversità come biomarcatore della salute e l’approccio “one health”, come valutazione dell’impatto degli inquinanti ambientali;

Obj4: Applicazione di tecniche di biomonitoraggio in aree a particolare rischio ambientale.

Pertanto, il WP2 ha la finalità di condurre valutazioni ed analisi su alcuni animali da allevamento residenti nel territorio lucano, sugli insetti e sui microbi del suolo, quale approccio di studio sull’impatto dei determinanti ambientali di inquinamento nell’ecosistema lucano complessivamente inteso. In tal senso, il WP2 si articolerà nelle seguenti Tasks.

Milestones:

- valutazione immunoepidemiologica dell’impatto dei determinanti ambientali di inquinamento sull’emergenza di malattie infettive di animali da allevamento sul territorio lucano;
- Monitoraggio dell’artropodofauna e delle specie microbiche del suolo come biomarcatori di inquinamento ambientale sul territorio lucano;

Deliverables (vedi anche paragrafo 3- Impatto):

- Ottenimento di indicatori biologici “one health”, quali strumenti di misurazione dello stato di inquinamento del suolo nel territorio lucano e di allerta per il potenziale impatto sulla salute umana.

Indicatori di progresso

Individuazione di criteri predittivi e diagnostici dell’impatto ambientale su patologie veterinarie, alterazioni artropodofauna e microbi del suolo, come marcatori dello stato di salute complessivo del territorio. Trasferimento di conoscenze e metodologie alle strutture sanitarie ed ambientali del territorio.

DIPARTIMENTI E PERSONALE UNIBAS COINVOLTO:

DiSBA= Dipartimento di Scienze di Base ed Applicate (precedentemente era indicato il Dip di Scienze)

- Prof. Alfonso Bavoso
- Prof. Raffaele Boni
- Dott. Stefano Cecchini
- Prof.ssa Patrizia Falabella
- Prof. Paolo fanti

- Prof.ssa Angela Ostuni
- Dott.ssa Rosanna Salvia

DiSS= Dipartimento di Scienze della Salute

- Prof. Giovanni Salzano
- Prof.ssa Maria Grazia Bonomo

DAFE= Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali, Alimentari ed Ambientali (DAFE)

- Prof.ssa Teresa Zotta

INTERAZIONI COLLABORAZIONI CON ALTRI SOGGETTI PARTECIPANTI: Al fine del raggiungimento degli obiettivi e delle finalità del complessivo Progetto LucAS, saranno promosse collaborazioni con gli eventuali Enti coinvolti per specifica competenza tematico-scientifica.

Il WP2 si articolerà nell'arco temporale di 60 mesi nelle seguenti TASK:

TASK 2.1 Immuno epidemiologia e malattie infettive degli animali domestici in aree ad elevata attività antropica industriale della Basilicata: un approccio One Health.

Background

Molteplici agenti inquinanti ambientali determinano negli animali superiori, uomo compreso, danni ossidativi alle biomacromolecole (88-90), causa di alterazioni strutturali e funzionali delle stesse, che si riflettono anche negativamente sulle capacità di difesa nei confronti dei patogeni (90). Ad oggi risultano poco chiari gli effetti sulla salute umana ed animale derivanti dall'esposizione prolungata ad inquinanti ambientali (27,91).

Obiettivi

Nella presente attività si intende valutare la diffusione di malattie infettive endemiche di animali domestici (ovi-caprini) quali ad esempio paratubercolosi, artrite encefalite caprina/Maedi visna, agalassia contagiosa, linfadenite caseosa, in relazione agli effetti della potenziale esposizione ad agenti inquinanti che potrebbero modulare le risposte del sistema immunitario anche in relazione al grado di stress ossidativo determinato da tale esposizione. Pertanto, nei siti di interesse evidenziati dal Progetto LucAS, verranno individuate aree geografiche a basso e ad alto impatto di inquinanti (per esempio idrocarburi policiclici aromatici e composti organici solforati), in cui effettuare i campionamenti di sangue ed eventualmente di altri tessuti da allevamenti ovi-caprini.

Metodologie

Accertamenti specifici sulla diffusione di patologie infettive endemiche verranno effettuati mediante test immunochimici specifici su sangue periferico. Alcuni parametri del sistema immunitario (citochine, immunoglobuline, anticorpi naturali, etc.), principalmente valutati con metodologie immunoenzimatiche, verranno utilizzati come indicatori dello stato di salute animale. La valutazione dello stress ossidativo, conseguente alla esposizione di inquinanti ambientali sarà effettuata mediante l'impiego principalmente di metodiche spettrofotometriche ed immunoenzimatiche in grado di accertare su popolazioni animali altamente esposte all'inquinamento ambientale ed utilizzate come organismi modello, l'equilibrio del potenziale ossidante/antiossidante, il danno ossidativo macromolecolare eventualmente determinato ed il potenziale di contrasto/ riparazione dello stesso.

Risultati attesi

I risultati sperimentali, elaborati con metodologie statistiche adeguate, potrebbero essere utili per evidenziare gli effetti di ambienti inquinati sulla salute umana in un approccio "One health", nell'intento di evincere, al di là di eventuali effetti diretti sul benessere, la risposta biologica ed il grado di resilienza degli organismi coinvolti agli insulti inquinanti accertati.

Responsabili: Prof. A. Bavoso, Prof. R. Boni, Prof.ssa A. Ostuni, Dott. Cecchini

TASK 2.2 Biomonitoraggio dell'artropodofauna di specifiche aree del territorio lucano.

Background

È sempre più evidente che l'ambiente e la salute pubblica siano in stretta relazione. Attraverso il monitoraggio ambientale è possibile controllare le deviazioni che si verificano in una situazione che si ritiene normale o di base, stabilendo i limiti

di accettabilità dei risultati. È un processo di raccolta sistematica di dati, sia qualitativi che quantitativi, portato avanti con una procedura standardizzata e in un periodo di tempo necessario a raccogliere i dati previsti. Il monitoraggio oltre a fornire informazioni legate ad agenti inquinanti, intesi come fattori di disturbo in grado di condizionare situazioni normali, sarà in futuro sempre più utilizzato come strumento fondamentale per la valutazione degli adattamenti della natura ai cambiamenti climatici rapidi e dei tentativi adottati dall'uomo al fine di attenuare questi effetti. Sono definiti bioindicatori gli organismi o i sistemi biologici utilizzati per valutare una modificazione della qualità dell'ambiente, poiché sono collegati, direttamente o indirettamente, a un fattore, o a un complesso di fattori, le cui variazioni si ripercuotono sull'organismo stesso, attraverso il quale è possibile rilevarli. Nell'ambito delle azioni volte al monitoraggio di inquinanti ambientali, gli insetti sono considerati ottimi bioindicatori poiché presenti in quasi tutti gli ecosistemi. Le principali caratteristiche di un bioindicatore sono infatti: ricchezza e diversità delle specie, facilità di gestione, fedeltà ecologica, fragilità ai piccoli cambiamenti ambientali e buone risposte dell'organismo; la classe degli insetti racchiude tutte queste caratteristiche. La consapevolezza dei problemi legati all'impatto sul suolo, determinato da inquinamenti o da scavi, lavori di cantiere in generale e dalle lavorazioni agricole più o meno profonde, ha portato a un crescente interesse nello studio della pedofauna; la valutazione della qualità biologica del suolo tramite la fauna edafica rappresenta una delle metodologie maggiormente adottate (92,93). Il suo utilizzo come bioindicatore, nello specifico, è dovuto alla differente capacità di diversi organismi di adattarsi a condizioni ambientali sfavorevoli o a modifiche indotte da attività antropiche (94). Gli organismi della fauna edafica compiono l'intero ciclo vitale nel suolo risultando più sensibili a fattori di disturbo rispetto ad altri organismi legati al suolo solo per un breve periodo del loro ciclo vitale; ecco perché possono essere considerati importanti indicatori della qualità dell'ambiente. Per il monitoraggio del suolo i collemboli sono molto utili poiché sono molto sensibili ai cambiamenti nel suolo e la riduzione della loro biodiversità è indice di inquinamento da metalli pesanti, pesticidi nei suoli agricoli e acidificazione dell'acqua del suolo da parte di sostanze organiche inquinanti e rifiuti (94-96). Il livello di inquinamento di ambienti acquatici può essere valutato attraverso il monitoraggio di specie che colonizzano tali ambienti: le specie dell'ordine Odonata acquatici allo stadio larvale, ad esempio, sono le più sensibili ai cambiamenti causati al loro habitat, specialmente laghi e paludi (14). Diverse altre specie delle famiglie Gyrinidae, Dytiscidae, Hydrophilidae (Coleoptera), Notonectidae, Veliidae (Heteroptera) e gli ordini di Plecotteri ed Efemerotteri colonizzano la maggior parte degli ambienti acquatici durante tutto l'anno (14). In generale, nell'inquinamento ambientale, le api sono considerate uno dei bioindicatori più versatili ed efficienti e sono utilizzate per monitorare metalli in tracce negli ambienti urbani, la radioattività e gli effetti di pesticidi ed erbicidi, rifiuti industriali e inquinanti (96). Anche i lepidotteri sono utilizzati come indicatori di inquinamento ambientale da metalli pesanti e anidride carbonica (concentrazione di CO₂) in luoghi vicini a zone industriali aree e anche all'interno delle aree urbane (1). La presenza e gli effetti di alcuni metalli pesanti presenti nell'aria sono stati valutati in alcune specie di lepidotteri della famiglia Eriocraniidae (97), e larve di lepidotteri della famiglia Nymphalidae che si nutrono di piante esposte ad alte concentrazioni di CO₂ (98). Ambienti con elevate concentrazioni di CO₂ possono alterare la fisiologia delle piante riflettendosi sugli insetti fitofagi, in particolar modo rallentandone lo sviluppo (98). Attraverso studi demografici, comportamentali, sulla tassonomia e sulla fisiologia degli insetti e più in generale degli artropodi, è possibile stimare le alterazioni ambientali e l'incidenza di inquinanti ambientali, tra cui pesticidi, metalli pesanti e inquinanti da petrolio, presenti al momento della verifica. Gli insetti, inoltre, possono essere utilizzati come organismi modello, in alternativa a quelli mammiferi, per screening preliminari volti a testare la tossicità di sostanze inquinanti. È stato dimostrato, infatti, che gli insetti mostrano un elevato grado di conservazione di alcune vie metaboliche e un elevato grado di similarità con il genoma umano (99-102). Pertanto, è possibile utilizzare gli insetti per studi in vivo, ex vivo e in vitro per poi trasporre i risultati ottenuti in modelli mammiferi.

Obiettivi e Metodologie

- 1) Valutazione della qualità del suolo di specifiche aree individuate dalla Regione Basilicata mediante determinazione dell'indice di qualità biologica del suolo (QBS-ar). L'indice di qualità biologica del suolo basandosi sul concetto di ecomorfologia, ovvero sull'insieme di organismi che presentano modificazioni morfologiche finalizzate ad adattarsi all'ambiente in cui vivono (103) è in grado di fornire informazioni sintetiche riguardanti le comunità edafiche e il loro grado di biodiversità, a prescindere dall'identificazione tassonomica a livello di specie. La metodologia di applicazione del QBS-ar prevede le seguenti fasi: prelievo del campione di suolo costituito da 3 zolle di terreno di 10 x 10 x 10 cm ciascuna; Estrazione dinamica dei microartropodi edafici tramite un selettore Berlese-Tüllgren; Determinazione delle forme biologiche allo stereomicroscopio a basso ingrandimento (10-80 X); Calcolo del valore finale del QBS-ar. Il selettore di Berlese-Tüllgren sfrutta i tropismi verticali della fauna edafica in relazione all'umidità del suolo. L'evaporazione dell'acqua contenuta nel suolo avviene grazie al calore generato da una lampadina a incandescenza posta a circa 20 cm sopra il campione. Il progressivo disseccamento e l'illuminazione del terreno forzano gli organismi edafici a spostarsi sempre più in basso, fino a cadere nel liquido fissatore (soluzione di alcol etilico e glicerina), che verrà poi analizzato allo stereomicroscopio. Il valore finale dell'indice QBS-ar è calcolato considerando tutti i gruppi rilevati in almeno uno dei tre campioni di terreno. Se in un gruppo sono presenti più forme biologiche, per la sommatoria si utilizza il massimo valore EMI (Indice Ecomorfologico) ottenuto (QBS-max). Il valore EMI è un punteggio compreso tra 1 e 20, in relazione al grado di adattamento della fauna edafica al suolo ed è valutato secondo i seguenti parametri: miniaturizzazione del corpo; Riduzione della pigmentazione; Riduzione della

lunghezza delle appendici, fino alla loro degradazione o sparizione; Riduzione degli apparati visivi fino all'anoftalmia; Presenza di chemiorecettori e/o idrorecettori.

- 2) Valutazione dei potenziali effetti di inquinanti o contaminanti di aria, suolo e acqua in vivo su insetti modello. Alcune tra le principali sostanze inquinanti saranno miscelate alla dieta (somministrazione orale) e per iniezione diretta nella cavità emocelica delle larve di insetti modello (es insetti appartenenti all'ordine dei Lepidotteri e Ditteri), a diversa concentrazione e a diversi stadi di sviluppo. La somministrazione orale consentirà di simulare in vivo l'ingestione degli inquinanti presenti nell'ambiente, valutando anche la dose minima ingerita per ottenere gli effetti indesiderati. L'iniezione nella cavità emocelica larvale fornirà indicazioni dirette sugli effetti degli inquinanti in esame senza alcuna interferenza da parte di fattori esterni o processi digestivi. Gli effetti saranno valutati sul tempo di sviluppo larvale, sulla dimensione e mortalità delle larve, sulla fertilità e fecondità degli adulti e sulla mortalità degli adulti.
- 3) Valutazione in vivo, ex vivo o in vitro degli effetti tossicologici degli inquinanti su insetti quali organismi modello.
 - 3.1 Sarà studiato lo sviluppo neurendocrino di insetti modello, con particolare attenzione alle vie metaboliche coinvolte nello sviluppo post-embrionale e come queste siano interferite dalla presenza di inquinanti. Saranno oggetto di studio le risposte a diversi fattori di stress e inquinanti ambientali con valutazione delle alterazioni di tali pathway cellulari e dei loro prodotti finali, tra cui ormoni. Sarà valutato, mediante metodo spettrofotometrico, lo stress ossidativo provocato dagli inquinanti misurando la malondialdeide, il contenuto di proteine carboniliche, entrambi biomarcatori di stress ossidativo, e l'attività del glutathione S-transferasi, enzima detossificante che agisce nella prevenzione del danno ossidativo (104). Sarà valutata, mediante metodo spettrofotometrico, l'attività dell'acetilcolinesterasi, fortemente inibita dagli organofosfati e dai carbammati presenti nei pesticidi (105).
 - 3.2 Saranno valutati i livelli di espressione di geni coinvolti nella risposta immunitaria e di geni coinvolti nella risposta al danno ossidativo indotto da inquinanti ambientali mediante qPCR (superossido dismutasi, catalasi, glutathione S-transferasi, β -glucosidasi, polifenolossidasi, perossidasi) (106,107). Tale valutazione sarà effettuata sia in vivo sugli insetti, che ex vivo o in vitro su cellule o linee cellulari di insetto.
 - 3.3 Saranno valutate le alterazioni strutturali e funzionali indotte da contaminanti ambientali ex vivo o in vitro su cellule o linee cellulari di insetto. Lo studio sarà effettuato tramite osservazioni al microscopio in cui sarà possibile visualizzare la vitalità cellulare (colorazione con Trypan blu e conta cellulare) e la presenza di cellule apoptotiche (colorazione Tunel), l'acidificazione del citoplasma (colorazione May Grunwald-Giemsa), la presenza di specie reattive dell'ossigeno (ROS) (colorazione con H2DCFDA) e danni al citoscheletro (108).

Risultati attesi

Lo svolgimento delle attività previste dal progetto consentirà di: 1) ottenere dati sull'effetto degli inquinanti in situ valutando gli effetti direttamente sulle specie presenti nei siti di interesse e sullo stato di salute dell'ambiente stesso. Lo stato di salute ambientale è strettamente legato allo stato di salute degli elementi che lo compongono, pertanto la valutazione del benessere della fauna (inclusi gli insetti) può fornire importanti indicazioni sullo stato di benessere dell'uomo, consentendo di intervenire in maniera precoce sui fenomeni (e sugli inquinanti) che causano maggiori rischi per l'ambiente e per la salute umana e animale, in un approccio one health; 2) Stabilire una relazione causa-effetto tra la presenza di determinati fattori ambientali e le alterazioni fisiologiche osservate; 3) Sviluppare metodiche di analisi su modelli alternativi per la sperimentazione in fase preliminare di inquinanti ambientali (metalli pesanti, inquinanti da petrolio ecc); 4) Sviluppare un sistema di controllo indiretto dello stato qualitativo delle matrici ambientali (aria, acqua e suolo) al fine di fornire indicazioni quantitative che siano di supporto a chi è preposto a programmare, progettare e realizzare gli interventi necessari a contenere la diffusione degli inquinanti e/o a ridurre la presenza a valori che non determinino rischi per la salute umana e per l'ecosistema.

Responsabili: Prof.ssa P. Falabella, Dott.ssa R. Salvia

TASK 2.3 Biomonitoraggio delle comunità microbiche di specifiche aree del territorio lucano.

Background

Le comunità microbiche giocano un ruolo importante nella qualità e funzionalità di molti ecosistemi. Il suolo, per esempio, è un'importante riserva di microrganismi (es. batteri, protozoi, attinomiceti, funghi; 1 g di suolo contiene miliardi di cellule) caratterizzati da un'elevata diversità tassonomica (in termini di gruppi microbici e specie) e funzionale (capacità metaboliche, interazioni tra gruppi microbici e organismi superiori). Le comunità microbiche del suolo, grazie alla loro versatilità, svolgono funzioni importanti nei cicli biogeochimici, nella decomposizione della sostanza organica, nella regolazione degli scambi gassosi e della disponibilità di nutrienti per piante e animali, nel mantenimento della struttura e della fertilità, nel bio-risanamento (decontaminazione di suoli e falde acquifere da composti tossici), nella lotta biologica per il controllo di microrganismi patogeni e infestanti (109). Anche negli ambienti acquatici, i microrganismi possono svolgere diverse funzioni (es. fotosintesi, mineralizzazione della sostanza organica, regolazione della disponibilità di nutrienti), alcune delle quali sono importanti per la sopravvivenza della fauna ittica. L'effetto dell'antropizzazione (es. urbanizzazione, attività industriali, utilizzo di composti chimici in agricoltura, scarso recupero

degli inquinanti, aumento della popolazione), tuttavia, può influenzare la qualità di un ecosistema e alterare, di conseguenza, la diversità e la funzionalità del suo microbiota (110,111). Pertanto, lo studio delle comunità microbiche (in termini di struttura e attività metaboliche) è cruciale per determinare lo stato di salute di un ecosistema e per individuare bio-marcatori utili per la stima e il monitoraggio di potenziali fattori inquinanti (112) e, quindi, per la sostenibilità ambientale e per la salute umana.

Obiettivi

- 1) applicazione di approcci “omici”(analisi metatassonomiche, metatrascrittomiche, metaboliche) per valutare la complessità strutturale e la diversità funzionale delle comunità microbiche degli ecosistemi selezionati;
- 2) Comprensione delle relazioni tra i cambiamenti delle comunità microbiche e la presenza di potenziali fattori inquinanti;
- 3) Comprensione delle relazioni tra le funzionalità metaboliche delle comunità microbiche e la qualità dell’ecosistema; capacità delle comunità microbiche di ripristinare l’equilibrio dell’ecosistema in seguito ad uno stress antropico.
- 4) Individuazione di bio-marcatori (es. gruppi microbici, geni microbici) per il monitoraggio della qualità dell’ecosistema;
- 5) Sviluppo di approcci biotecnologici per il mantenimento della sostenibilità ambientale e della salute umana.

Metodologie

Campionamento. I campioni di diverse matrici ambientali saranno prelevati in tutti gli areali individuati nel progetto. I siti di campionamento saranno accuratamente selezionati sulla base dei dati ambientali ed epidemiologici già a disposizione della Regione Basilicata (per gli aspetti della letteratura scientifica già nota e per quelli individuati contestualmente agli studi ambientali del Progetto LucAS), e la modalità di campionamento garantirà la rappresentatività dell’ecosistema oggetto di analisi. I campionamenti saranno effettuati almeno 2 volte l’anno per valutare anche l’effetto della stagionalità (es. clima, precipitazioni atmosferiche) sui cambiamenti del microbiota. Studio della diversità tassonomica del microbiota di matrici ambientali. La diversità tassonomica sarà valutata (sull’intero DNA estratto dai campioni) mediante un approccio di sequenziamento massimo ad alto rendimento (Amplicon-Targeted High Throughput Sequencing, AT-HTS), utilizzando come sequenze target i marcatori molecolari 16S rRNA e 18S rRNA/ITS, rispettivamente, per la componente procariote ed eucariote del microbiota. Saranno ottimizzate le pipeline per l’analisi bioinformatica, al fine di aumentare il potere risolutivo dell’analisi e definire la struttura delle comunità microbiche.

L’identificazione tassonomica e la bio-tipizzazione dei microrganismi coltivabili, isolati dalle varie aree di interesse, sarà invece effettuato mediante spettrometria di massa, utilizzando l’approccio MALDI-ToF/MS (Matrix-assisted laser desorption/ionization-time-of-flight/mass spectrometry), ormai diffuso in molti studi di ecologia microbica (113) per i costi contenuti e l’elevato potere discriminante. Questa fase consentirà di: caratterizzare a livello tassonomico le comunità microbiche presenti negli ecosistemi degli areali potenzialmente inquinati, correlare la composizione e il dinamismo del microbiota con i fattori dell’inquinamento, individuazione gruppi microbici da utilizzare come bio-target per la determinazione della qualità dell’ecosistema. Studio della funzionalità delle comunità microbiche di matrici ambientali. Per valutare la frazione attiva e vitale del microbiota, e quindi la funzionalità dei vari gruppi microbici, sarà utilizzato un approccio meta-trascrittomico, basato sul sequenziamento massivo dell’intero RNA estratto dai campioni (mRNA, RNA-sequencing). L’annotazione funzionale delle sequenze e l’analisi dell’abbondanza dei trascritti consentiranno di valutare l’espressione e la regolazione dei geni in risposta a determinate condizioni ambientali.

Il profilo del metatrascrittoma consentirà di: correlare la struttura tassonomica e le funzionalità metaboliche del microbiota, evidenziare l’attivazione di pathway metabolici possibilmente connessi ai potenziali inquinanti (es. degradazione di idrocarburi, assimilazione di metalli pesanti), valutare la relazione tra funzionalità metaboliche ed evoluzione delle comunità microbiche. Individuazione e utilizzo di geni target per valutare la qualità dei campioni. L’analisi metatrascrittomica consentirà di individuare geni microbici specificatamente espressi e regolati in risposta ai potenziali inquinanti. Questi dati saranno utilizzati per ottimizzare saggi di Real Time-qPCR utilizzando come target geni legati a specifiche attività metaboliche (geni funzionali per i processi di un determinato ecosistema). Lo sviluppo di protocolli di RT-qPCR basati sull’analisi di geni funzionali selezionati consentirà di avere uno strumento rapido ed efficace per stimare i cambiamenti degli ecosistemi in risposta a potenziali fattori inquinanti. Caratterizzazione del profilo metabolico delle comunità microbiche. Lo studio del profilo fisiologico (phenotype fingerprinting) delle comunità microbiche sarà valutato mediante l’approccio meta-fenomico noto come Community-Level Physiological Profiling (CLPP; 114). Nello specifico, saranno utilizzati microarray fenotipici (es. Biolog® EcoPlates) per valutare la capacità delle comunità microbiche di utilizzare substrati di interesse (es., carboidrati, polimeri complessi, acidi carbossilici, chetonici, amine, aminoacidi), e individuare cambiamenti nelle attività metaboliche in risposta ai fattori ambientali. Le funzionalità delle comunità microbiche saranno correlate con i dati meta-tassonomici e meta-trascrittomici, nonché con i parametri chimico-fisici e biochimici dei campioni considerati.

Risultati attesi

Lo svolgimento delle suddette attività consentirà di ottenere:

- 1) informazioni complete (a livello ecologico, tassonomico e funzionale) sulle comunità microbiche presenti nelle aree di interesse;

- 2) Ottenere modelli di comunità microbiche correlate ad ecosistemi “sani” e “inquinati” al fine di trasferire conoscenze utili per le azioni di bonifica, recupero e mantenimento della qualità del territorio;
- 3) Bio-marcatore (gruppi microbici, geni microbici funzionali) per il monitoraggio rapido di potenziali inquinanti, al fine di prevenire o contenere danni (sia al territorio che alla popolazione) ad essi associati;
- 4) L’implementazione di un laboratorio di ecologia microbica per il monitoraggio della qualità dei vari ecosistemi, che possa supportare strategie biotecnologiche per il ripristino e la valorizzazione del territorio.

Responsabili: Prof.ssa M.G. Buonomo, Prof. G. Salzano, Prof.ssa T. Zotta,

WP3 TITOLO E SINTESI DEGLI OBIETTIVI: APPROCCIO “ANALISI SENSORIALE”.

Responsabile scientifico: Prof.ssa Fernanda Galgano, Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali, Alimentari ed Ambientali (DAFE)

Università della Basilicata (UniBas)

Obiettivi specifici:

Obj5: Analisi delle alterazioni sensoriali come indicatori di tossicità ambientale.

Milestones:

- Analisi delle alterazioni sensoriali come indicatori di tossicità ambientale;

Deliverables (vedi anche paragrafo 3- Impatto):

- Implementazione del quadro diagnostico epidemiologico sul potenziale impatto dell’inquinamento ambientale sulla salute umana nel territorio lucano.

Indicatori di progresso

Impiego di parametri specifici, relativi alle alterazioni sensoriali, per la mappatura della ricaduta della tossicità ambientale sul territorio lucano

DIPARTIMENTI E PERSONALE UNIBAS COINVOLTO:

Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali, Alimentari ed Ambientali (DAFE)

- Prof. Nicola Condelli
- Prof.ssa Fernanda Galgano

INTERAZIONI COLLABORAZIONI CON ALTRI SOGGETTI PARTECIPANTI: Al fine del raggiungimento degli obiettivi e delle finalità del complessivo Progetto LucAS, saranno promosse collaborazioni con gli eventuali Enti coinvolti per specifica competenza tematico-scientifica.

Il WP3 ha l’obiettivo di condurre specificamente la valutazione degli effetti dell’esposizione ad inquinanti derivati dalle estrazioni petrolifere sulle funzioni sensoriali della popolazione e sul profilo sensoriale di prodotti tipici e non dell’agroalimentare lucano.

Background

È noto che i metalli pesanti provocano effetti tossici che influiscono negativamente sulla salute umana (115). Sebbene questi metalli siano presenti in natura e si trovino in bassa quantità in tutta la crosta terrestre, l’esposizione umana generalmente deriva da attività antropiche. Il petrolio greggio contiene metalli pesanti e le fuoriuscite di petrolio sono una fonte di contaminazione degli ambienti acquatici, terrestri nonché dei prodotti alimentari (116). Gli effetti negativi dei metalli pesanti, soprattutto Ni, V, Pb, Cd, Zn, e Cu sulla salute umana sono molteplici e possono essere imputabili alla loro ingestione, inalazione o al contatto cutaneo. L’eccessiva esposizione ai metalli pesanti provoca tossicità acuta e cronica con danni al sistema nervoso centrale, al sangue, ai polmoni, ai reni ed al fegato (117). In aggiunta, l’esposizione e l’assunzione di metalli pesanti può causare una serie di alterazioni sensoriali e chemosensoriali. I meccanismi che portano alla disfunzione chemiosensoriale, imputabile agli inquinanti ambientali, coinvolgono principalmente lo stress ossidativo, l’infiammazione e l’apoptosi, oltre a meccanismi sensoriali specifici che interessano la trasduzione del segnale olfattivo e modulatore correlati al funzionamento olfattivo (118). Nello specifico, i metalli pesanti possono andare a bloccare i canali ionici (es. canali Na⁺ e Ca²⁺), che svolgono ruoli fondamentali nella comunicazione neurale del sistema nervoso centrale e chemiosensoriale (119). Gli studi di settore si sono concentrati sulla relazione esistente tra l’esposizione occupazionale ai metalli pesanti e le alterazioni delle percezioni chemosensoriali (120). Tuttavia, è stata

poco indagata l'associazione tra l'esposizione ai metalli pesanti, dovuta al possibile inquinamento delle aree interessate dalle estrazioni petrolifere, e la disfunzione del senso del gusto e dell'olfatto (121). In aggiunta, la correlazione tra inquinamento ambientale da metalli pesanti e presenza degli stessi nei prodotti alimentari è nota ormai da anni ed è stata recentemente oggetto di revisione (122). Come già riportato, il suolo può essere notevolmente perturbato da metalli pesanti provenienti da attività antropiche e la principale fonte di esposizione umana agli stessi è da ricercarsi in prodotti di origine vegetale coltivati su terreni inquinati (123). Quando si verifica un'esposizione degli alimenti a prodotti petrolchimici, la qualità sensoriale (in termini di gusto, odore e aspetto) può essere inficiata. Talvolta può accadere che campioni potenzialmente inquinati superano i test chimico-analitici standard (ovvero i livelli dei contaminanti sono inferiori ai limiti consentiti), ma risultano caratterizzati dalla presenza di off-odours e off-flavours. Negli ultimi anni si sta dando sempre più importanza alle scienze sensoriali come metodo per valutare l'impatto delle attività antropiche sulle caratteristiche sensoriali dei prodotti alimentari, in quanto mediante i propri sensi l'uomo può percepire la presenza di sostanze estranee (124). In Lucania, l'area di estrazione petrolifera della Valle dell'Agri è caratterizzata da una consistente attività agricola. In particolare, in questa area vi è la produzione di prodotti tipici quali il canestrato di Moliterno, i fagioli di Sarconi e il peperone di Senise nonché di prodotti agroalimentari tradizionali come il miele lucano. Nei pressi dell'area industriale di Viggiano sono presenti anche attività intensive di produzione di erba medica, fieno e insilato di mais per l'allevamento di vacche e ovicapri. Molto intensa è la produzione di latte vaccino destinato al mercato nazionale. Alla luce di ciò, risulta di interesse valutare le caratteristiche sensoriali specifiche dei prodotti alimentari coltivati e ottenuti nelle aree soggette ad estrazioni (con livelli di inquinanti inferiori ai limiti consentiti).

Obiettivi

L'obiettivo dello studio si articola in due parti: da un lato la valutazione degli effetti dell'esposizione ad inquinanti derivati dalle estrazioni petrolifere, in particolare metalli pesanti, sulle funzioni sensoriali della popolazione e dall'altro la valutazione del potenziale effetto di inquinanti (con livelli inferiori ai limiti consentiti) sul profilo sensoriale di prodotti tipici e non dell'agroalimentare lucano.

Metodologie analitiche utilizzate dal gruppo proponente e applicate anche per le attività di ricerca

Valutazione della funzionalità di gusto e olfatto. Un campione di popolazione rappresentativo dei residenti nelle specifiche aree geografiche individuate dal Progetto e di tutti gli abitanti della Basilicata sarà coinvolto nello studio. Tutte le aree da cui provengono i soggetti coinvolti dovranno essere oggetto del monitoraggio ambientale. A tutti i soggetti coinvolti nello studio verranno somministrati dei questionari finalizzati alla raccolta di informazioni relative a variabili socio-demografiche, antropometriche e di salute fisica (125). Nei questionari, saranno inclusi quesiti relativi agli odori percepiti ed eventuali disfunzioni del gusto (126). La funzionalità o disfunzionalità dell'olfatto dei partecipanti allo studio verrà valutata attraverso test di identificazione dell'odore basati sull'impiego di odori microincapsulati (125). I test relativi al gusto saranno effettuati attraverso la somministrazione di diverse concentrazioni di standard in grado di simulare i gusti fondamentali (amaro, acido, dolce, salato ed umami). Inoltre, potranno essere valutate le differenze individuali in risposta ai gusti fondamentali e alle sensazioni chemoestetiche e tattili all'astringenza e alla piccantezza attraverso l'impiego di concentrazioni fisse di standard e l'impiego della scala gLMS (generalized Labeled Magnitude Scale) (125,126).

Analisi quantitativa descrittiva. Campioni di prodotti alimentari dalle aree prese in esame dal progetto, in particolare formaggio miele e prodotti ortofrutticoli saranno oggetto di test di analisi sensoriale. Prerequisito alla selezione dei campioni da somministrare durante i test sarà la salubrità dei prodotti, che conterranno un livello di contaminanti al di sotto della soglia consentita per legge (Reg. CE 1881/2006).

Il profilo sensoriale di prodotti alimentari derivanti dalle aree prese in esame verrà valutato attraverso l'impiego di test descrittivi. Verrà reclutato un panel di giudici che saranno addestrati al riconoscimento e identificazione dei descrittori caratteristici dell'alimento in valutazione, ma anche di quei descrittori prettamente legati alla presenza di inquinanti ambientali (127). Terminata la fase di addestramento, ai giudici verrà chiesto di indicare l'intensità del descrittore percepito ed anche di esprimere un giudizio di gradimento, mediante scala lineare a 9 punti. Il profilo descrittivo ottenuto, espresso mediante l'utilizzo di spider plot, verrà confrontato con quello relativo al campione controllo. Il campione di controllo verrà selezionato in base ai risultati emersi dal monitoraggio ambientale, ovvero scegliendo quello con il più basso livello di contaminanti ambientali.

Risultati attesi

I dati raccolti attraverso questo studio potranno fornire un quadro relativo alle disfunzioni di gusto e olfatto della popolazione lucana, valutandone la correlazione con la presenza di inquinanti ambientali causati da attività estrattive di petrolio, di lavorazione dei metalli, dalla presenza di impianti di depurazione o presenza naturale di amianto. Gusto e olfatto rappresentano sensi fondamentali per la qualità della vita dell'individuo. Questi permettono la percezione del flavour di alimenti e bevande, guidano l'assunzione degli alimenti e non di minore importanza avvertono della presenza di pericoli ambientali quali prodotti alimentari degradati, perdite di gas, presenza di fumo o specifici inquinanti ambientali. I risultati emersi dai test descrittivi di analisi sensoriale permetteranno di evidenziare se la presenza di più elevati valori di inquinanti causano un cambiamento nel profilo sensoriale dei prodotti alimentari valutati. Inoltre, sarà possibile valutare se vi sono possibili correlazioni tra punteggio di gradimento e intensità di quei descrittori, considerati

off-odour e off-flavour, associati alla presenza di contaminanti nell'alimento valutato. I dati ottenuti consentiranno di completare il quadro informativo sugli effetti delle attività antropiche oggetto di indagine per una valutazione a 360° degli effetti sulle produzioni alimentari e sulla salute umana dovuti all'assunzione di alimenti contaminati.

Bibliografia complessiva WP1, 2, 3

- Adamski, Z.; Bufo, S.A.; Chowański, S.; Falabella, P.; Lubawy, J.; Marciniak, P.; Pacholska-Bogalska, J.; Salvia, R.; Scrano, L.; Słocińska, M.; et al. Beetles as Model Organisms in Physiological, Biomedical and Environmental Studies – A Review. *Front. Physiol.* 2019, 10, doi:10.3389/fphys.2019.00319;
- Adamski, Z.; Marciniak, P.; Ziemnicki, K.; Büyükgüzel, E.; Erdem, M.; Büyükgüzel, K.; Ventrella, E.; Falabella, P.; Cristallo, M.; et al. Potato leaf extract and its component, α -solanine, exert similar impacts on development and oxidative stress in *Galleria mellonella* L. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 2014, 87, 26–39, doi:10.1002/arch.21177;
- Ajmani, G. S., Suh, H. H., & Pinto, J. M. (2016). Effects of ambient air pollution exposure on olfaction: a review. *Environmental health perspectives*, 124(11), 1683-1693;
- Alfinito F, Sica M, Luciano L, Della Pepa R, Palladino C, Ferrara I, Giani U, Ruggiero G, Terrazzano G. Immune dysregulation and dyserythropoiesis in the myelodysplastic syndromes.. 2010. *Br J Haematol*, 148(1):90-8. doi: 10.1111/j.1365-2141.2009.07921.x;
- an BK, Hallschmid M, Kern W, Lehnert H, Randeve HS. Decreased cerebrospinal fluid/plasma ratio of the novel satiety molecule, nesfatin-1/NUCB-2, in obese humans: evidence of nesfatin-1/NUCB-2 resistance and implications for obesity treatment. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011 Apr;96(4):E669-73. doi: 10.1210/jc.2010-1782;
- Armentano MF, Caterino M, Miglionico R, Ostuni A, Pace MC, Cozzolino F, Monti M, Milella L, Carosino M, Pucci P, Bisaccia F. New insights on the functional role of URG7 in the cellular response to ER stress. *Biol Cell.* 2018 Jul;110(7):147-158. doi: 10.1111/boc.201800004;
- Bednarska AJ, Choczyński M, Laskowski R, Walczak M. Combined effects of chlorpyrifos, copper and temperature on acetylcholinesterase activity and toxicokinetics of the chemicals in the earthworm *Eisenia fetida*, *Environmental Pollution.* 2017. 220, 567-576;
- Bo Strandberg, Anneli Julander, Mattias M. Sjöström, Marie Lewn, Hatice Koca Akdeve, Carolina Bigert An improved method for determining dermal exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons *Chemosphere* 198, 2018 274-280;
- Bonomo M.G., Calabrone L., Scrano L., Bufo S.A., Di Tomaso K., Buongarzone E., Salzano G. Metagenomic monitoring of soil bacterial community after the construction of a crude oil flowline. *Environ Monit Assess* 194, 48 (2022) doi.org/10.1007/s10661-021-09637-3;
- Braca A, Sinisgalli C, De Leo M, Muscatello B, Cioni PL, Milella L, Ostuni A, Giani S, Sanogo R. Phytochemical Profile, Antioxidant and Antidiabetic Activities of *Adansonia digitata* L. (Baobab) from Mali, as a Source of Health-Promoting Compounds. *Molecules.* 2018 Nov 27;23(12):3104. doi: 10.3390/molecules23123104;
- Brancaleone V, Gobetti T, Cenac N, le Faouder P, Colom B, Flower RJ, Vergnolle N, Nourshargh S, Perretti M. A vasculo-protective circuit centered on lipoxin A4 and aspirin-triggered 15-epi-lipoxin A4 operative in murine microcirculation. *Blood.* 2013 Jul 25;122(4):608-17. doi: 10.1182/blood-2013-04-496661;
- Brancaleone V, Mitidieri E, Flower RJ, Cirino G, Perretti M. Annexin A1 mediates hydrogen sulfide properties in the control of inflammation. *J Pharmacol Exp Ther.* 2014 Oct;351(1):96-104. doi: 10.1124/jpet.114.217034;
- Brancaleone V, Roviezzo F, Vellecco V, De Gruttola L, Bucci M, Cirino G. Biosynthesis of H2S is impaired in non-obese diabetic (NOD) mice. *Br J Pharmacol.* 2008 Nov;155(5):673-80. doi: 10.1038/bjp.2008.296;
- Bucci M, Roviezzo F, Brancaleone V, Di Lorenzo A, Evangelista S, Gori M, Cirino G. ACE-inhibition ameliorates vascular reactivity and delays diabetes outcome in NOD mice. *Vascul Pharmacol.* 2008 Aug-Sep;49(2-3):84-90. doi: 10.1016/j.vph.2008.06.002;
- Bucci M, Roviezzo F, Brancaleone V, Lin MI, Di Lorenzo A, Cicala C, Pinto A, Sessa WC, Farneti S, Fiorucci S, Cirino G. Diabetic mouse angiopathy is linked to progressive sympathetic receptor deletion coupled to an enhanced caveolin-1 expression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004 Apr;24(4):721-6. doi: 10.1161/01.ATV.0000122362.44628.09;
- Cambra-López, M., Aarnink, A. J. A., Zhao, Y., Calvet, S. & Torres, A. G. Airborne particulate matter from livestock production systems: a review of an air pollution problem. *Environ. Pollut.* 158, 1–17, 2010
- Campesi I, Milella L, Palermo M, Sotgiu G, Reggiardo G, Franconi F. Cigarette smoking affects the differences between male and female phenotypes. *Am J Transl Res.* 2020 Jun 15;12(6):2998-3010;
- Cardoso CR. The Aryl Hydrocarbon Receptor (AHR) as a Potential Target for the Control of Intestinal Inflammation: Insights from an Immune and Bacteria Sensor Receptor. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2020 Dec;59(3):382-390. doi: 10.1007/s12016-020-08789-3;
- Chiappini F, Sánchez M, Miret N, Cocca C, Zotta E, Ceballos L, Pontillo C, Bilotas M, Randi A. Exposure to environmental concentrations of hexachlorobenzene induces alterations associated with endometriosis progression in a rat model. *Food Chem Toxicol.* 2019 Jan;123:151-161. doi: 10.1016/j.fct.2018.10.056;
- Chowdhury R, Ramond A, O'Keefe LM, Shahzad S, Kunutsor SK, Muka T, Gregson J, Willeit P, Warnakula S, Khan H, Chowdhury S, Gobin R, Franco OH, Di Angelantonio E. Environmental toxic metal contaminants and risk of cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2018 Aug 29;362:k3310. doi: 10.1136/bmj.k3310;

- Cirino G, Vellecco V, Bucci M. Nitric oxide and hydrogen sulfide: the gasotransmitter paradigm of the vascular system. *Br J Pharmacol.* 2017 Nov;174(22):4021-4031. doi: 10.1111/bph.13815;
- Cong LH, Li T, Wang H, Wu YN, Wang SP, Zhao YY, Zhang GQ, Duan J. IL-17A-producing T cells exacerbate fine particulate matter-induced lung inflammation and fibrosis by inhibiting PI3K/Akt/mTOR-mediated autophagy. *J Cell Mol Med.* 2020 Aug;24(15):8532-8544. doi: 10.1111/jcmm.15475;
- Da Rocha, J.R.; De Almeida, J.R.; Lins, G.A.; Durval, A. Insects as indicators of environmental changing and pollution: a review of appropriate species and their monitoring. *Holos Environ.* 2010, 10, 250, doi:10.14295/holos.v10i2.2996;
- Das, D. N.; Panda, P. K.; Naik, P. P.; Mukhopadhyay, S.; Sinha, N.; Bhutia, S. K., Phytotherapeutic approach: a new hope for polycyclic aromatic hydrocarbons induced cellular disorders, autophagic and apoptotic cell death. *Toxicology mechanisms and methods* 2017, 27, 1-17) ;
- Deacqunita L. Diggs, Ashley C. Huderson, Kelly L. Harris, Jeremy N. Myers, Leah D. Banks, Perumalla V. Rekhadevi, Mohammad S. Niaz, and Aramandla Ramesh Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and digestive tract cancers - a perspective *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev.* 2011 October; 29(4): 324–357. doi:10.1080/10590501.2011.62997;
- Defois C., Ratel J., Garrait G., Denis S., Le Goff O., Talvas J., Mosoni P., Engel E., Peyret P. (2018) Food Chemicals Disrupt Human Gut Microbiota Activity And Impact Intestinal Homeostasis As Revealed By In Vitro Systems. *Scientific Reports*, 8, 11006;
- Derraik, J. G. B. The pollution of the marine environment by plastic debris: a review. *Mar. Pollut. Bull.* 44, 842–852 (2002);
- Durak, R.; Dampc, J.; Kula-Maximenko, M.; Mołóń, M.; Durak, T. Changes in Antioxidative, Oxidoreductive and Detoxification Enzymes during Development of Aphids and Temperature Increase. *Antioxidants* 2021, 10, 1181, doi:10.3390/antiox10081181;
- Egbe, R. E., & Thompson, D. (2010). Environmental challenges of oil spillage for families in oil producing communities of the Niger Delta region. *JHER [Internet]*, 13, 24-34;
- Emerging pollutants in the EU: 10 years of NORMAN in support of environmental policies and regulations. *Environ Sci Eur* 30, 5, 2018;
- Fajer, E.D. The effects of enriched CO₂ atmospheres on plant-insect herbivore interactions: growth responses of larvae of the specialist butterfly, *Junonia coenia* (Lepidoptera: Nymphalidae). *Oecologia* 1989, 81, 514–520, doi:10.1007/BF00378962;
- Felix M. Onyije, Bayan Hosseini, Kayo Togawa, Joachim Schütz and Ann Olsson Cancer Incidence and Mortality among Petroleum Industry Workers and Residents Living in Oil Producing Communities:A Systematic Review and Meta-Analysis *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2021 doi.org/10.3390/ijerph18084343;
- Fergusson, J. E. (1990). *The heavy elements: chemistry, environmental impact and health effects* Jack E. Fergusson (No. 628.53 F4);
- Fernandes-da-Silva A, Miranda CS, Santana-Oliveira DA, Oliveira-Cordeiro B, Rangel-Azevedo C, Silva-Veiga FM, Martins FF, Souza-Mello V. Endoplasmic reticulum stress as the basis of obesity and metabolic diseases: focus on adipose tissue, liver, and pancreas. *Eur J Nutr.* 2021 Sep;60(6):2949-2960. doi: 10.1007/s00394-021-02542-y.
- Finelli C, Martelli G, Rossano R, Padula MC, La Sala N, Sommella L, Tarantino G. Nesfatin-1: role as possible new anti-obesity treatment. *EXCLI J.* 2014 May 26;13:586-91;
- Finelli C, Padula MC, Martelli G, Tarantino G. Could the improvement of obesity-related co-morbidities depend on modified gut hormones secretion? *World J Gastroenterol.* 2014 Nov 28;20(44):16649-64. doi: 10.3748/wjg.v20.i44.16649;
- Fogliati L., Nicola A. *Il biomonitoraggio del suolo*, 2013;
- Forest V. Combined effects of nanoparticles and other environmental contaminants on human health - an issue often overlooked, *NanoImpact*, Volume 23,2021,100344, doi: 10.1016/j.impact.2021.100344
- Foth, H., Kahl, R. & Kahl, G. F. Pharmacokinetics of low doses of benzo[a]pyrene in the rat. *Food Chem. Toxicol.* 26, 45–51, 1988;
- Fouladi F., Bailey M. J., Patterson W. B., Sioda M., Blakley I. C., Fodor A. A., Jones R. B., Chen Z., Kim J. S., Lurmann F., Martino C., Knight R., Gilliland F. D., Alderete T. L. (2020). Air pollution exposure is associated with the gut microbiome as revealed by shot gun metagenomic sequencing. *Environment International* 138, 105604;
- Fries, G. F. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* Vol. 141 eds. Ware, G. W. & Gunther, F. A. 71–109, Springer, 1995;
- Gałazka A., Grządziel J., Gałazka R., Ukalska-Jaruga A., Strzelecka J., Smreczak B. (2018). Genetic and functional diversity of bacterial microbiome in soils with long-term impacts of petroleum hydrocarbons. *Frontiers Microbiology*, 9: 1923.
- GBD 2015 Risk Factors Collaborators. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet* 388, 1659–1724, 2016
- Gerlach, J.; Samways, M.; Pryke, J. Terrestrial invertebrates as bioindicators: an overview of available taxonomic groups. *J. Insect Conserv.* 2013, 17, 831–850, doi:10.1007/s10841-013-9565-9;
- Germolec, D. et al. Immunotoxicology: a brief history, current status and strategies for future immunotoxicity assessment. *Curr. Opin. Toxicol.* 5, 55–59, 2017;

- Ghorbani, M. R., Ghanavati, N., Babaenejad, T., Nazarpour, A., & Payandeh, K. (2020). Assessment of the potential ecological and human health risks of heavy metals in Ahvaz oil field, Iran. *Plos one*, 15(11), e0242703;
- Gobba, F. (2006). Olfactory toxicity: long-term effects of occupational exposures. *International archives of occupational and environmental health*, 79(4), 322-331;
- González-Puebla E, González-Horta C, Infante-Ramírez R, Sanin LH, Levario-Carrillo M, Sánchez-Ramírez B. Altered expressions of MMP-2, MMP-9, and TIMP-2 in placentas from women exposed to lead. *Hum Exp Toxicol*. 2012 Jul;31(7):662-70. doi: 10.1177/0960327111431706;
- Guo C, Weber RJM, Buckley A, Mazzolini J, Robertson S, Delgado-Saborit JM, Rappoport JZ, Warren J, Hodgson A, Sanderson P, Chipman JK, Viant MR, Smith R. Environmentally Relevant Iron Oxide Nanoparticles Produce Limited Acute Pulmonary Effects in Rats at Realistic Exposure Levels. *Int J Mol Sci*. 2021 Jan 8;22(2):556. doi: 10.3390/ijms22020556. PMID: 33429876; PMCID: PMC7827273;
- Gutiérrez-Vázquez C, Quintana FJ. Regulation of the Immune Response by the Aryl Hydrocarbon Receptor. *Immunity*. 2018 Jan 16;48(1):19-33. doi: 10.1016/j.immuni.2017.12.012;
- <https://www.who.int/news/item/14-03-2016-preventing-disease-through-healthy-environments-a-global-assessment-of-the-burden-of-disease-from-environmental-risks>
- Huschek D, Witzel K (2019) Rapid dereplication of microbial isolates using matrix-assisted laserdesorption ionization time-of-flight mass spectrometry: A mini-review. *Journal of Advance Research* 19: 99-104;
- Inadera, H. The immune system as a target for environmental chemicals: xenoestrogens and other compounds. *Toxicol. Lett.* 164, 191–206, 2006;
- Infantino V, Iacobazzi V, Menga A, Avantaggiati ML, Palmieri F. A key role of the mitochondrial citrate carrier (SLC25A1) in TNF α - and IFN γ -triggered inflammation. *Biochim Biophys Acta*. 2014 Nov;1839(11):1217-1225. doi: 10.1016/j.bbagr.2014.07.013;
- Infantino V, Iacobazzi V, Palmieri F, Menga A. ATP-citrate lyase is essential for macrophage inflammatory response. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013 Oct 11;440(1):105-11. doi: 10.1016/j.bbrc.2013.09.037;
- *Infectious Disease Epidemiology (Oxford Specialist Handbooks)* Edited by Ibrahim Abubakar, Helen R. Stagg, Ted Cohen, and Laura C. Rodrigues Publisher: Oxford University Press Print Publication Date: Apr 2016 Print ISBN-13: 9780198719830 Published online: Jun 2016 DOI: 10.1093/med/ 9780198719830.001.0001;
- J. Angerer á C. Mannschreck á J. GuEn del Biological monitoring and biochemical effect monitoring of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons *Int Arch Occup Environ Health* (1997) 70: 365-377;
- Kao, J., Patterson, F. K. & Hall, J. Skin penetration and metabolism of topically applied chemicals in six mammalian species, including man: an in vitro study with benzo[a]pyrene and testosterone. *Toxicol. Appl. Pharmacol* 81, 502–516, 1985;
- Kewley RJ, Whitelaw ML, Chapman-Smith A. The mammalian basic helix-loop-helix/PAS family of transcriptional regulators. *Int J Biochem Cell Biol*. 2004; 36:189–20;
- Khan, A., Khan, S., Khan, M. A., Qamar, Z., & Waqas, M. (2015). The uptake and bioaccumulation of heavy metals by food plants, their effects on plants nutrients, and associated health risk: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(18), 13772-13799;
- Khan, H., Labanca, F., Ullah, H., Hussain, Y., Tzvetkov, N.T., Akkol, E.K., Milella, L. Advances and challenges in cancer treatment and nutraceutical prevention: the possible role of dietary phenols in BRCA regulation (2021) *Phytochemistry Reviews*, DOI: 10.1007/s11101-021-09771-3;
- Kimura A, Naka T, Nohara K, Fujii-Kuriyama Y, Kishimoto T. Aryl hydrocarbon receptor regulates Stat1 activation and participates in the development of Th17 cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of American* 2008;105:9721–9726;
- Kodrík, D.; Bednářová, A.; Zemanová, M.; Krishnan, N. Hormonal Regulation of Response to Oxidative Stress in Insects—An Update. *Int. J. Mol. Sci*. 2015, 16, 25788–25816, doi:10.3390/ijms161025788;
- Koricheva, J.; Haukioja, E. Effects of Air Pollution on Host Plant Quality, Individual Performance, and Population Density of Eriocrania Miners (Lepidoptera: Eriocraniidae). *Environ. Entomol*. 1992, 21, 1386–1392, doi:10.1093/ee/21.6.1386;
- Lamorte, D., Faraone, I., Laurenzana, I., Milella, L., Trino, S., De Luca, L., Vecchio, L.D., Armentano, M.F., Sinisgalli, C., Chiummiento, L., Russo, D., Bisaccia, F., Musto, P., Caivano, A. Future in the past: Azorella glabra wedd. as a source of new natural compounds with antiproliferative and cytotoxic activity on multiple myeloma cells (2018) *International Journal of Molecular Sciences*, 19 (11), art. no. 3348, . DOI: 10.3390/ijms19113348;
- Landrigan, P. J. et al. The Lancet Commission on pollution and health. *Lancet* 391, 462–512, 2018;
- Laura Campo, Federica Rossella, Silvia Fustinoni, Development of a gas chromatography/mass spectrometry method to quantify several urinary monohydroxy metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in occupationally exposed subjects *Journal of Chromatography B*, 875 2008 531–540
- Le Chatelier E., Nielsen T., Qin J. Prifti E. (2013). Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature* 500(7464):541- 6;
- Lewkowska P, Dymerski T, Namieśnik J (2015) Use of Sensory Analysis Methods to Evaluate the Odor of Food and Outside Air. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 45(20), 2208-2244;
- Li N., Yang Z., Liao B., Pan T., Pu J., Hao B., Fu Z., Cao W., Zhou Y., He F., Li B., Ran P. (2020) Chronic exposure to ambient particulate matter induces gut microbial dysbiosis in a rat COPD model. *Respiratory Research* 21:271
- Li Z, Wu Y, Chen HP, Zhu C, Dong L, Wang Y, Liu H, Xu X, Zhou J, Wu Y, Li W, Ying S, Shen H, Chen ZH. MTOR Suppresses Environmental Particle-Induced Inflammatory Response in Macrophages. *J Immunol*. 2018 Apr 15;200(8):2826-2834. doi: 10.4049/jimmunol.1701471;

- Li, F.; Zhao, X.; Li, M.; He, K.; Huang, C.; Zhou, Y.; Li, Z.; Walters, J.R. Insect genomes: progress and challenges. *Insect Mol. Biol.* 2019, 28, 739–758, doi:10.1111/imb.12599;
- Liab D., Yanga Y. Li Y. Zhuac X. Lic Z. Epigenetic regulation of gene expression in response to environmental exposures: From bench to model *Science of The Total Environment* 2021; 776: 145998;
- Lindenmayer, D.B.; Likens, G.E. The science and application of ecological monitoring. *Biol. Conserv.* 2010, 143, 1317–1328, doi:10.1016/j.biocon.2010.02.013;
- Lubrano E, Cantini F, Mathieu A, Olivieri I, Salvarani C, Scarpa R, Marchesoni A. A national survey on the management of psoriatic arthritis using the Delphi method. *Clin Exp Rheumatol.* 2016;
- Luster, M. I. A historical perspective of immunotoxicology. *J. Immunotoxicol.* 11, 197–202, 2014;
- Luster, M. I., Portier, C., Pait, D. G. & Germolec, D. R. Use of animal studies in risk assessment for immunotoxicology. *Toxicology* 92, 229–243, 1994;
- Miller MR, Newby DE. Air pollution and cardiovascular disease: car sick. *Cardiovasc Res.* 2020 Feb 1;116(2):279-294. doi: 10.1093/cvr/cvz228. PMID: 31583404;
- Monteleone, E., Spinelli, S., Dinnella, C., Endrizzzi, I., Laureati, M., Pagliarini, E. & Tesini, F. (2017). Exploring influences on food choice in a large population sample: The Italian Taste project. *Food Quality and Preference*, 59, 123-140;
- Nimis, P. L.; Skert, N. & Castello, M. Biomonitoraggio di metalli in traccia tramite licheni in aree a rischio del Friuli-Venezia Giulia. 1999;
- Ozcan U, Cao Q, Yilmaz E, Lee AH, Iwakoshi NN, Ozdelen E, Tuncman G, Görgün C, Glimcher LH, Hotamisligil GS. Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes. *Science.* 2004 Oct 15;306(5695):457-61. doi: 10.1126/science.1103160;
- Padula MC, Leccese P, Lascaro N, Padula AA, Carbone T, Martelli G, D'Angelo S. Identification of a de novo NLRP3 gene variation in an Italian Behçet syndrome patient. *Int J Immunogenet.* 2019 Oct;46(5):339-341. doi: 10.1111/iji.12442;
- Parisi V. La qualità biologica del suolo. Un metodo basato sui microartropodi. *Acta Naturalia de "L'Ateneo Parmense"*, 2001;
- Parisi, V.; Menta, C.; Gardi, C.; Jacomini, C.; Mozzanica, E. Microarthropod communities as a tool to assess soil quality and biodiversity: a new approach in Italy. *Agric. Ecosyst. Environ.* 2005, 105, 323–333, doi:10.1016/j.agee.2004.02.002;
- Platel, A.; Privat, K.; Talahari, S.; Delobel, A.; Dourdin, G.; Gateau, E.; Simar, S.; Saleh, Y.; Sotty, J.; Antherieu, S., Study of in vitro and in vivo genotoxic effects of air pollution fine (PM2. 5-0.18) and quasi-ultrafine (PM0. 18) particles on lung models. *Science of the Total Environment* 2020, 711, 134666;
- Rai, P. K., Lee, S. S., Zhang, M., Tsang, Y. F., & Kim, K. H. (2019). Heavy metals in food crops: Health risks, fate, mechanisms, and management. *Environment international*, 125, 365-385;
- Rappaport SM, Smith MT, *Epidemiology. environment and disease risks.* *Science* 330, 460–461, 2010;
- Rawal, S., Hoffman, H. J., Honda, M., Huedo-Medina, T. B., & Duffy, V. B. (2015). The taste and smell protocol in the 2011–2014 US National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES): test–retest reliability and validity testing. *Chemosensory perception*, 8(3), 138-148;
- Reilly, T. I., & York, R. K. (2001). Guidance on sensory testing and monitoring of seafood for presence of petroleum taint following an oil spill.
- Rendowski MR, El-Charif O, Ratain MJ, Monahan P, Mu Z, Wheeler HE, Dinh PC Jr, Feldman DR, Ardeshir-Rouhani-Fard S, Hamilton RJ, Vaughn DJ, Fung C, Kollmannsberger C, Mushiroda T, Kubo M, Hannigan R, Strathmann F, Einhorn LH, Fossa SD, Travis LB, Dolan ME. Clinical and Genome-Wide Analysis of Serum Platinum Levels after Cisplatin-Based Chemotherapy. *Clin Cancer Res.* 2019 Oct 1;25(19):5913-5924. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-0113;
- Rossano et al. 2014. *J Cell Mol Med*,18:242-252. doi: 10.1111/jcmm.12181) ;
- Roviezzo F, Bucci M, Brancaleone V, Di Lorenzo A, Geppetti P, Farneti S, Parente L, Lungarella G, Fiorucci S, Cirino G. Proteinase-activated receptor-2 mediates arterial vasodilation in diabetes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005 Nov;25(11):2349-54. doi: 10.1161/01.ATV.0000184770.01494.2e;
- Roviezzo F, Bucci M, Delisle C, Brancaleone V, Di Lorenzo A, Mayo IP, Fiorucci S, Fontana A, Gratton JP, Cirino G. Essential requirement for sphingosine kinase activity in eNOS-dependent NO release and vasorelaxation. *FASEB J.* 2006 Feb;20(2):340-2. doi: 10.1096/fj.05-4647fje;
- Rutgers, M., Wouterse, M., Drost, S.M., Breure, A.M., Mulder, C., Stone, D., Winding A., & Bloem, J. (2016). Monitoring soil bacteria with community-level physiological profiles using BiologTM ECO-plates in the Netherlands and Europe. *Applied Soil Ecology* 97: 23–35;
- Sabbatini M, Ruggiero G, Palatucci AT, Rubino V, Federico S, Giovazzino A, Apicella L, Santopaolo M, Matarese G, Galgani M, Terrazzano G. Oscillatory mTOR inhibition and Treg increase in kidney transplantation. 2015. *Clin Exp Immunol*, 182(2):230-40. doi: 10.1111/cei.12669;
- Salvia, R.; Scieuzo, C.; Grimaldi, A.; Fanti, P.; Moretta, A.; Franco, A.; Varricchio, P.; Vinson, S.B.; Falabella, P. Role of Ovarian Proteins Secreted by *Toxoneuron nigriceps* (Viereck) (Hymenoptera, Braconidae) in the Early Suppression of Host Immune Response. *Insects* 2021, 12, 33, doi:10.3390/insects12010033;
- Santarsiero A, Onzo A, Pascale R, Acquavia MA, Coviello M, Convertini P, Todisco S, Marsico M, Pifano C, Iannece P, Gaeta C, D'Angelo S, Padula MC, Bianco G, Infantino V, Martelli G. Pistacia lentiscus Hydrosol: Untargeted Metabolomic Analysis and Anti-Inflammatory Activity Mediated by NF-κB and the Citrate Pathway. *Oxid Med Cell Longev.* 2020 Nov 1;2020:4264815. doi: 10.1155/2020/4264815;

- Santarsiero A, Onzo A, Pascale R, Acquavia MA, Coviello M, Convertini P, Todisco S, Marsico M, Pifano C, Iannece P, Gaeta C, D'Angelo S, Padula MC, Bianco G, Infantino V, Martelli G. Pistacia lentiscus Hydrosol: Untargeted Metabolomic Analysis and Anti-Inflammatory Activity Mediated by NF- κ B and the Citrate Pathway. *Oxid Med Cell Longev*. 2020 Nov 1;2020:4264815. doi: 10.1155/2020/4264815;
- Schindler, D.E.; Hilborn, R. Prediction, precaution, and policy under global change. *Science*. 2015, 347, 953–954, doi:10.1126/science.1261824;
- Schloter M, Nannipieri P, Sørensen SJ, van Elsas JD. 2018. Microbial indicators for soil quality. *Biology and Fertility of Soils*, 54:1-10;
- Scott K.P., Antoine J.M., Midtvedt T., van Hemert S. (2015). Manipulating the GM to maintain health and treat disease. *Microb Ecol Health Dis* 26:25877;
- Sheehan, G.; Garvey, A.; Croke, M.; Kavanagh, K. Innate humoral immune defenses in mammals and insects: The same, with differences? *Virulence* 2018, 9, 1625–1639, doi:10.1080/21505594.2018.1526531;
- Silverman, N. NF-kappaB signaling pathways in mammalian and insect innate immunity. *Genes Dev*. 2001, 15, 2321–2342, doi:10.1101/gad.909001;
- Singh, R., Kaur, B., Kalina, I., Popov, T. A., Georgieva, T., Garte, S., Binkova, B., Sram, R. J., Taioli, E., & Farmer, P. B. (2007). Effects of environmental air pollution on endogenous oxidative DNA damage in humans. *Mutation research*, 620(1-2), 71–82. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2007.02.024>;
- Sinisgalli C, Vezza T, Diez-Echave P, Ostuni A, Faraone I, Hidalgo-Garcia L, Russo D, Armentano MF, Garrido-Mesa J, Rodriguez-Cabezas ME, Rodriguez-Nogales A, Milella L, Galvez J. The Beneficial Effects of Red Sun-Dried Capsicum annum L. Cv Senise Extract with Antioxidant Properties in Experimental Obesity are Associated with Modulation of the Intestinal Microbiota. *Mol Nutr Food Res*. 2021 Feb;65(3):e2000812. doi: 10.1002/mnfr.202000812;
- Sirenko O, Grimm FA, Ryan KR, Iwata Y, Chiu WA, Parham F, Wignall JA, Anson B, Cromwell EF, Behl M, Rusyn I, Tice RR. In vitro cardiotoxicity assessment of environmental chemicals using an organotypic human induced pluripotent stem cell-derived model. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2017 May 1;322:60-74. doi: 10.1016/j.taap.2017.02.020;
- Siroux V, et al. The exposome concept: a challenge and a potential driver for environmental health research. *Eur Respir Rev*. 2016; 25:124-9;
- Smith, K. R. & Ezzati, M. How environmental health risks change with development: the epidemiologic and environmental risk transitions revisited. *Annu. Rev. Environ. Resour.* 30, 291–333, 2005;
- Solenkova NV, Newman JD, Berger JS, Thurston G, Hochman JS, Lamas GA. Metal pollutants and cardiovascular disease: mechanisms and consequences of exposure. *Am Heart J*. 2014 Dec;168(6):812-22. doi: 10.1016/j.ahj.2014.07.007;
- Suzuki, T., Hidaka, T., Kumagai, Y. et al. Environmental pollutants and the immune response. *Nat Immunol* 21, 1486–1495, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41590-020-0802-6>;
- Terrazzano G, Bruzzaniti S, Rubino V, Santopaolo M, Palatucci AT, Giovazzino A, La Rocca C, de Candia P, Puca A, Perna F, Procaccini C, De Rosa V, Porcellini C, De Simone S, Fattorusso V, Porcellini A, Mozzillo E, Troncone R, Franzese A, Ludvigsson J, Matarese G, Ruggiero G, Galgani M. T1D progression is associated with loss of CD3+CD56+ regulatory T cells that control CD8+ T cell effector functions.. 2020. *Nat Metab*, 2(2):142-152. doi: 10.1038/s42255-020-0173-1;
- Thompson P.A., Khatami M., Bagloli C. J., Sun J., Harris S., Moon E-Y, Al-Mulla F., Al-Temaimi R., Brown D., Colacci A., Mondello C., Raju J., Ryan E., Woodrick J., Scovassi I., Singh N., Vaccari M., Roy R., Forte S., Memeo L., Salem H. K., Amedei A., Hamid R. A., Lowe L. Guarnieri T. and Bisson W. H. Environmental immune disruptors, inflammation and cancer risk *Carcinogenesis*, 2015, Vol. 36, Supplement 1, S232–S253;
- Tierney, K. B., Baldwin, D. H., Hara, T. J., Ross, P. S., Scholz, N. L., & Kennedy, C. J. (2010). Olfactory toxicity in fishes. *Aquatic toxicology*, 96(1), 2-26;
- Urbini, A.; Sparvoli, E.; Turillazzi, S. Social paper wasps as bioindicators: a preliminary research with *Polistes dominulus* (Hymenoptera Vespidae) as a trace metal accumulator. *Chemosphere* 2006, 64, 697–703, doi:10.1016/j.chemosphere.2005.11.009;
- van Bruggen AHC, Goss EM, Havelaar A, van Diepeningen AD, Finckh MR, Morris JG (2019) One Health - Cycling of diverse microbial communities as a connecting force for soil, plant, animal, human and ecosystem health. *Science of the Total Environment* 664: 927-937;
- van Straalen, N. M., & Krivolutsky, D. A. (Eds.). *Bioindicator systems for soil pollution* (Vol. 16). Springer Science & Business Media, 1996;
- Vellecco V, Mitidieri E, Gargiulo A, Brancaleone V, Matassa D, Klein T, Esposito F, Cirino G, Bucci M. Vascular effects of linagliptin in non-obese diabetic mice are glucose-independent and involve positive modulation of the endothelial nitric oxide synthase (eNOS)/caveolin-1 (CAV-1) pathway. *Diabetes Obes Metab*. 2016 Dec;18(12):1236-1243. doi: 10.1111/dom.12750;
- Vermeulen R, Schymanski EL, Barabási AL, Miller GW. The exposome and health: Where chemistry meets biology. *Science*. 2020 Jan 24;367(6476):392-396. doi: 10.1126/science.aay3164;
- Wei, S., Xu, T., Jiang, T., & Yin, D. (2021). Chemosensory Dysfunction Induced by Environmental Pollutants and Its Potential As a Novel Neurotoxicological Indicator: A Review. *Environmental Science & Technology*, 55(16), 10911-10922;

- Wei, S., Xu, T., Jiang, T., & Yin, D. (2021). Chemosensory Dysfunction Induced by Environmental Pollutants and Its Potential as a Novel Neurotoxicological Indicator: A Review. *Environmental Science & Technology*, 55(16), 10911-10922;
- Wells SP, Waddell HM, Sim CB, Lim SY, Bernasochi GB, Pavlovic D, Kirchhof P, Porrello ER, Delbridge LMD, Bell JR. Cardiomyocyte functional screening: interrogating comparative electrophysiology of high-throughput model cell systems. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2019 Dec 1; 317(6):C1256-C1267. doi: 10.1152/ajpcell.00306.2019;
- Wild CP, Complementing the genome with an “exposome”: the outstanding challenge of environmental exposure measurement in molecular epidemiology. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 14, 1847–1850, 2005;
- Wu J, Han W, Chen X, Guo W, Liu K, Wang R, Zhang J, Sai N. Matrix metalloproteinase-2 and -9 contribute to functional integrity and noise-induced damage to the blood-labyrinth-barrier. *Mol Med Rep*. 2017 Aug;16(2):1731-1738. doi: 10.3892/mmr.2017.6784;
- Wu YF, Li ZY, Dong LL, Li WJ, Wu YP, Wang J, Chen HP, Liu HW, Li M, Jin CL, Huang HQ, Ying SM, Li W, Shen HH, Chen ZH. Inactivation of MTOR promotes autophagy-mediated epithelial injury in particulate matter-induced airway inflammation. *Autophagy*. 2020 Mar;16(3):435-450. doi: 10.1080/15548627.2019.1628536;
- Zaira Leni, Lisa Künzi, Marianne Geiser, Air pollution causing oxidative stress, *Current Opinion in Toxicology*, Volumes 20–21, 2020, Pages 1-8, ISSN 2468-2020, <https://doi.org/10.1016/j.cotox.2020.02.006>;
- Zhang XX, Fu Z, Zhang Z, Miao C, Xu P, Wang T, Yang L, Cheng S. Microcystin-LR promotes melanoma cell invasion and enhances matrix metalloproteinase-2/-9 expression mediated by NF-κB activation. *Environ Sci Technol*. 2012 Oct 16;46(20):11319-26. doi: 10.1021/es3024989;

3. IMPATTO

Risultati attesi per il WP1

Lo studio, negli obiettivi del **WP1**, potrà auspicabilmente correlare l'esposizione cronica della popolazione lucana ai determinanti dell'inquinamento ambientale all'eventuale determinismo eziopatogenetico di malattie emergenti sul territorio lucano, monitorarne l'andamento e, potenzialmente, ottimizzare le potenziali ed occorrenti terapie specifiche. In particolare, saranno valutati aspetti eziopatogenetici di malattie immuno-mediate, cardiovascolari, oncologiche, da danno genetico, molecolare e cellulare, da stress ossidativo, da alterazione biochimiche, enzimatiche e metaboliche, da disfunzioni del microbiota intestinale. Inoltre, lo studio potrà fornire informazioni circa gli esiti del monitoraggio in merito all'osservazione di specifici biomarcatori cellulari e molecolari, in grado di rappresentare elementi cognitivi per l'ottimizzazione delle tecniche diagnostiche da implementare nella sorveglianza attiva della medicina territoriale specifica delle aree individuate nel progetto. Infine, il **WP1** intende realizzare un'attenta valutazione del potenziale effetto cancerogeno e mutageno, oltre che della tossicità cellulare e molecolare, degli inquinanti ambientali rivenienti dal dato epidemiologico-statistico sul territorio lucano su modelli cellulari e molecolari mediante valutazione dei meccanismi coinvolti nella loro patogenesi. Ciò permetterà di valutare ed identificare anche la dose di agente inquinante potenzialmente tossico in seguito ad esposizione a breve e lungo termine dello stesso.

Pertanto, il **WP1** potrà auspicabilmente contribuire:

- 1) A correlare le patologie emergenti nelle specifiche aree di interesse (come definite nel documento di indirizzo della Regione Basilicata) alle possibili eziopatogenesi ed alla presenza di biomarcatori riconducibili all'esposoma;
- 2) A correlare i determinanti ambientali derivati da attività antropiche ed emergenza di patologie cronico-degenerative nelle suddette aree di interesse;
- 3) Al perfezionamento diagnostico, prognostico e di applicazione terapeutica sui dati analitici emergenti dallo studio LucAS e nella complessiva attuazione del progetto, congiuntamente agli Enti coinvolti;
- 4) All'analisi epidemiologica geografica, nella complessiva attuazione del progetto e congiuntamente agli Enti coinvolti;
- 5) All'analisi epidemiologica molecolare, nella complessiva attuazione del progetto e congiuntamente agli Enti coinvolti.

Risultati attesi per il WP2

IL **WP2** ha l'obiettivo di condurre valutazioni ed analisi su alcuni animali da allevamento residenti nel territorio lucano, sugli insetti e sui microbi del suolo, quale approccio di studio sull'impatto dei determinanti ambientali di inquinamento nell'ecosistema lucano complessivamente inteso. In particolare, nelle specifiche aree di interesse individuate dal progetto LucAS, lo studio effettuerà: 1) la valutazione immunoepidemiologica di malattie infettive di animali da allevamento (ovicaprini); 2) il Biomonitoraggio dell'artropodofauna; 3) Il Biomonitoraggio delle specie microbiche del suolo. In tali ambiti, I risultati sperimentali potrebbero essere utili per evidenziare gli effetti di ambienti inquinati sulla salute umana in un approccio “*One health*” nell'intento di evincere, al di là di eventuali effetti diretti sul benessere, la risposta biologica ed il grado di resilienza degli organismi coinvolti agli insulti inquinanti accertati nelle specifiche aree di interesse.

Pertanto, il **WP2** potrà auspicabilmente contribuire:

- 1) a studiare la biodiversità come biomarcatore della salute e l'approccio "one health", come valutazione dell'impatto degli inquinanti ambientali;
- 2) Al perfezionamento diagnostico, prognostico e di applicazione terapeutica sui dati analitici emergenti dallo studio LucAS e nella complessiva attuazione del progetto, congiuntamente agli Enti coinvolti;
- 3) All'analisi epidemiologica geografica, nella complessiva attuazione del progetto e congiuntamente agli Enti coinvolti;
- 4) All'analisi epidemiologica molecolare, nella complessiva attuazione del progetto e congiuntamente agli Enti coinvolti.

Risultati attesi per il WP3

Le attività previste dal **WP3** potranno fornire un quadro relativo alle disfunzioni di gusto e olfatto della popolazione lucana, valutandone la correlazione con la presenza di inquinanti ambientali causati da attività estrattive di petrolio, di lavorazione dei metalli, dalla presenza di impianti di depurazione o presenza naturale di amianto. I dati ottenuti consentiranno di completare il quadro informativo sugli effetti delle attività antropiche oggetto di indagine per una valutazione a 360° degli effetti sulle produzioni alimentari e sulla salute umana dovuti all'assunzione di alimenti contaminati.

Pertanto, il WP3 potrà auspicabilmente contribuire:

- 1) ad analizzare le alterazioni sensoriali come indicatori di tossicità ambientale;
- 2) Al perfezionamento diagnostico, prognostico e di applicazione terapeutica sui dati analitici emergenti dallo studio LucAS e nella complessiva attuazione del progetto, congiuntamente agli Enti coinvolti;
- 3) All'analisi epidemiologica geografica, nella complessiva attuazione del progetto e congiuntamente agli Enti coinvolti;
- 4) All'analisi epidemiologica molecolare, nella complessiva attuazione del progetto e congiuntamente agli Enti coinvolti.

Finalità complessive per l'insieme dei WP.

Le attività complessive dei WP1,2,3 saranno volte a concorrere alle finalità progettuali LucAS di:

- a. Realizzare un Polo di Ricerca, "diffuso" sul territorio regionale, e di Formazione Professionale dotato di aule multimediali, di ambulatori specialistici, e laboratori Clinici, Chimici, Biotecnologici e Eco-Tossicologici all'avanguardia tecnico scientifica, nella complessiva attuazione del progetto e congiuntamente agli Enti coinvolti;
- b. Promuovere, congiuntamente agli Enti coinvolti nell'attuazione del progetto, un sistema che consenta di migliorare, nel tempo, il livello di conoscenza degli impatti e dei rischi sulla componente Salute connessi alle dinamiche dello stato ambientale di riferimento;
- c. Condividere, congiuntamente agli Enti coinvolti nell'attuazione del progetto, le azioni di *governance* finalizzate al miglioramento e le performances di sostenibilità ambientale e di benessere delle comunità;
- d. Contribuire, congiuntamente agli Enti coinvolti nell'attuazione del progetto, a realizzare strumenti di *governance* territoriali, includendo gli stakeholder istituzionali (scientifici, tecnici, amministrativi) e sociali (imprese, cittadini, associazioni) della Regione Basilicata;

4. RISCHI

Identificare i possibili rischi cui il progetto potrebbe incorrere nel corso della sua implementazione:

- Alto turnover del personale specializzato
- Riduzione del capitale umano
- Difficoltà organizzative imputabili al difficile reperimento delle competenze necessarie
- X** **Resistenze esterne all'organizzazione**
- Difficoltà di comunicazione con gli stakeholder
- Servizi di supporto non all'altezza delle esigenze
- X** **Soggetto attuatore con risorse tecnologiche e umane non adeguate al progetto**
- X** **Instabilità politica**
- X** **Ritardo nell'avvio dei programmi attuativi**
- X** **Altro: non completamento della fase ricognitiva sul dato sanitario emergente sui territori**

PARTE C

GANTT DI PROGETTO

WP	Complessivo periodo 5 anni	1	2	3	4	5
WP1	STUDIO SU MARCATORI PROGNOSTICO-DIAGNOSTICO E DI ANDAMENTO DI MALATTIA IN CAMPIONI DELLA POPOLAZIONE LUCANA					
T1.1	<i>Marcatori di risposta immune e di immuno-regolazione</i>					
T1.2	<i>Biomarcatori dell'immunometabolismo</i>					
T1.3	<i>Profilo di tossicità funzionale dei contaminanti ambientali identificati su cellule endoteliali, cellule del sangue e vasi isolati</i>					
T1.4	<i>Approcci di esposomica per la definizione di nuovi marker prognostici e diagnostici associabili al rischio di patologie oncologiche del tratto gastro-intestinale</i>					
T1.5	<i>Individuazione di potenziali marcatori di cardiotoxicità</i>					
T1.6	<i>Monitoraggio e prevenzione dei processi di citotossicità e di carcinogenesi in cellule polmonari ed intestinali indotti dall'inquinamento ambientale</i>					
T1.7	<i>Microbiota intestinale</i>					
T1.8	<i>Marcatori genomici</i>					
T1.9	<i>Marcatori di danno cellulare</i>					
T1.10	<i>Rivalutazione del rischio sulla salute umana di sostanze inquinanti presenti nei siti industriali della Basilicata</i>					
T1.11	<i>Profili proteolitici</i>					
WP2	APPROCCIO "ONE HEALTH"					
T2.1	<i>Immuno epidemiologia e malattie infettive degli animali domestici in aree ad elevata attività antropica industriale della Basilicata</i>					
T2.2	<i>Biomonitoraggio della artropodofauna di specifiche aree del territorio lucano</i>					
T2.3	<i>Biomonitoraggio delle comunità microbiche di specifiche aree del territorio lucano</i>					
WP3	APPROCCIO "ANALISI SENSORIALE"					
T3.1	<i>Analisi sensoriale</i>					

|