

Bologna, 18 Ottobre 2019

## **Prima riunione di coordinamento del progetto PRIN 2017**

Venerdì 18 Ottobre, ore 11,00 - Sala riunioni dell'Università di Bologna (ospiti del Prof. Giovanni Valdrè) in P.zza San Donato 1, Bologna.

Presenti: Prof. Ballirano (SAPIENZA); Prof.ssa Bassi, Prof.ssa Marengo, Prof.ssa Scarfi (UNIGE); Prof. Gualtieri, Prof.ssa Arletti, Dr. Di Giuseppe (UNIMORE); Dr. Mattioli (UNIURB), Prof.ssa Pugnali, Prof.ssa Fazzioli, Dr. Marzoni (UNIVPM); Dr. Raneri, Prof. Perchiazzi, Prof. Lezzerini (UNIFI).

### **Ordine del Giorno**

1. Comunicazioni
2. Aspetti economici legati al budget del progetto
3. Obiettivi generali del progetto
4. Proposte di suddivisione delle linee di ricerca e obiettivi
5. Proposte piani di lavoro delle unità locali per il primo anno
6. Sito web
7. Varie ed eventuali

#### 1. Comunicazioni

a) L'unità della SAPIENZA inserirà il Dr. Pacella al posto del Prof. Gianfagna, collocato a riposo. L'unità comprende anche il Dr. Bloise dell'Università della Calabria.

b) Il Dr. Mattioli fungerà da coordinatore locale dell'unità UNIURB al posto della Prof.ssa Ottaviani, collocata a riposo. L'unità UNIURB comprende anche il Prof. Della Ventura di Roma Tre.

c) Si presentano le varie unità di ricerca, come risulta dall'**Allegato 1**.

### **RESEARCH UNITS – Legend:**

**UNIMORE** = University of Modena and Reggio Emilia (P.I. **Alessandro Gualtieri**)

**SAPIENZA** = University La Sapienza, Roma (L.R. **Paolo Ballirano**)

**UNIGE** = University of Genova (L.R. **Anna Bassi**)

**UNIFI** = University of Pisa (L.R. **Simona Raneri, under 40**)

**UNIURB** = University of Urbino (L.R. **Maria Francesca Ottaviani**)

**UNIVPM** = Università Politecnica delle Marche (L.R. **Antonio Procopio**)

#### 2. Aspetti economici legati al budget del progetto

Il Coordinatore nazionale fornisce dettagli sulla gestione delle spese eleggibili del progetto (**Allegato 2**) ed illustra il budget delle singole unità dopo la rimodulazione (vedi sotto).

## Suddivisione dei costi delle Unità



n°	Sede dell'Unità *	Responsabile Scientifico	Contributo MIUR per ricerca	Cofinanziamento Ateneo/Ente	Quota Premiale (per l'Ateneo del coordinatore scientifico)	Costo Totale
1.	Università degli Studi di MODENA e REGGIO EMILIA	GUALTIERI Alessandro	113.000	10.538	14.670	138.208
2.	Università di PISA	RANERI Simona	61.000	1.621	--	62.621
3.	Università degli Studi di ROMA "La Sapienza"	BALLIRANO Paolo	65.000	7.333	--	72.333
4.	Università degli Studi di Urbino Carlo Bo	OTTAVIANI Maria Francesca	65.000	8.131	--	73.131
5.	Università degli Studi di GENOVA	BASSI Anna Maria	75.000	8.412	--	83.412
6.	Università Politecnica delle MARCHE	PROCOPIO Antonio Domenico	70.000	3.961	--	73.961
<b>Totale</b>			<b>449.000</b>	<b>39.996</b>	<b>14.670</b>	<b>503.666</b>

(\*) i dati si riferiscono alla presentazione del progetto

Data ..... (inserita dal sistema al termine della redazione della suddivisione dei costi)

### 3. Obiettivi generali del progetto

#### a) Aspetti pratici legati al progetto.

Viene designata la Prof.ssa Pugnali (coadiuvata dalla collega Dr. Marzioni dell'unità locale UNIVPM) come secondo coordinatore nazionale del progetto.

b) Si decide che le riunioni di coordinamento del progetto avranno cadenza biennale.

c) La prossima riunione di coordinamento sarà organizzata a Modena dall'unità UNIMORE, indicativamente nel mese di giugno 2020.

#### d) Obiettivi generali.

Il coordinatore nazionale illustra gli obiettivi del progetto che sono in linea con i modelli quantitativi di predizione della cancerogenicità della IARC (Cancer KCs: *"IARC in 2016 began using a new 'key characteristics (KCs) of carcinogens' approach to evaluate the carcinogenic potency of chemicals and other agents. KCs are a set of 10 characteristics that are similar to and informed by the 'hallmarks of cancer,' or common characteristics of cancer cells, detailed by Hanahan and Weinberg (2011). The IARC KCs include 10 attributes."*

#### IARC's 10 key characteristics of carcinogens

Characteristic	Examples of relevant evidence
1. Is electrophilic or can be metabolically activated	Parent compound or metabolite with an electrophilic structure (e.g. epoxide, quinone, etc.), formation of DNA and protein adducts
2. Is genotoxic	DNA damage (DNA strand breaks, DNA-protein cross-links, unscheduled DNA synthesis), intercalation, gene mutations, cytogenetic changes (e.g. chromosome aberrations, micronuclei)
3. Alters DNA repair or causes genomic instability	Alterations of DNA replication or repair (e.g. topoisomerase II, base-excision or double-strand break repair)
4. Induces epigenetic alterations	DNA methylation, histone modification, microRNA expression
5. Induces oxidative stress	Oxygen radicals, oxidative stress, oxidative damage to macromolecules (e.g. DNA, lipids)
6. Induces chronic inflammation	Elevated white blood cells, myeloperoxidase activity, altered cytokine and/or chemokine production
7. Is immunosuppressive	Decreased immunosurveillance, immune system dysfunction
8. Modulates receptor-mediated effects	Receptor in/activation (e.g. ER, PPAR, AhR) or modulation of exogenous ligands (including hormones)
9. Causes immortalization	Inhibition of senescence, cell transformation
10. Alters cell proliferation, cell death or nutrient supply	Increased proliferation, decreased apoptosis, changes in growth factors, energetics and signaling pathways related to cellular replication or cell cycle control, angiogenesis

Vedi articoli fondamentali sul modello IARC KCs (**Allegati 3 e 4**).

Successivamente, il coordinatore nazionale illustra i parametri critici del modello FPTI (**Allegato 5**) e il nuovo applicativo web-FPTI sviluppato per il progetto dall'unità UNIMORE.

### Modello FPTI

Parameter	Element	Major adverse effect	Major pathobiological process
<b>Morphometric</b>			
length L	(1,1)	frustrated phagocytosis	Inflammation and oxidative stress
diameter D	(1,2)	frustrated phagocytosis	inflammation and oxidative stress
crystal curvature	(1,3)	reduced surface adhesion of proteins/cells	inflammation and oxidative stress?
crystal habit	(1,4)	airways deposition depth	inflammation and oxidative stress
fiber density	(1,5)	airways deposition depth	inflammation and oxidative stress
hydrophobic character of the surface	(1,6)	Interaction with biopolymers, phagocytosis	inflammation and oxidative stress?
surface area	(1,7)	airways deposition depth, frustrated phagocytosis	(chronic) inflammation and oxidative stress
<b>Chemical</b>			
Total iron content	(1,8)	Production of ROS	DNA damage and inflammation
ferrous iron	(1,9)	Production of ROS	DNA damage and inflammation
Surface ferrous iron/iron nuclearity	(1,10)	Production of ROS	DNA damage and inflammation
content of metals other than iron	(1,11)	Production of ROS	DNA damage and inflammation
<b>Biodurability</b>			
dissolution rate log(R)	(1,12)	frustrated phagocytosis ...	Inflammation ...
velocity of iron release	(1,13)	production of ROS	inflammation
velocity of silica dissolution	(1,14)	production of ROS?	oxidative stress and inflammation?
velocity of release of metals	(1,15)	ROS production	DNA damage, inflammation, ...
<b>Surface activity</b>			
$\xi$ potential	(1,16)	production of ROS and hemolysis	Inflammation ...
fibers' aggregation	(1,17)	frustrated phagocytosis	inflammation
Cation exchange in zeolites	(1,18)	interference with ER cross-talk?	apoptosis, necrosis?

Il coordinatore nazionale chiede al gruppo di ricerca di esprimersi sulla possibilità di lavorare su **due livelli**.

-**livello 1**: un **progetto generale** che richieda il contributo sinergico di tutte le unità di ricerca;

-**livello 2**: **progetti secondari** gestiti dalle singole unità di ricerca, anche in maniera autonoma (linee di ricerca delle varie unità già avviate/storiche).

Il secondo livello di progettualità deve essere in linea con gli obiettivi generali del progetto e può (eventualmente ma non obbligatoriamente) prevedere interazione tra unità diverse. Il primo livello porta a prodotti della ricerca condivisi, coordinati a livello nazionale mentre il secondo livello porta a eventuali prodotti di ricerca specifici più o meno condivisi.

Il coordinatore nazionale illustra una proposta per il filone generale (**livello 1**):

-identificazione di una fibra da utilizzare come *case study*. E' necessario selezionare la fibra per il *case study*:

- mordenite?
- Erionite Oregon USA?
- Crisotili usati industrialmente (russo esportato in USA? Brasiliano? cinese?)
- Ferrierite?
- Glaucofane fibroso di Calaveras?

**Si decide di arrivare alla selezione della fibra per il *case study* entro la fine dell'anno.**

-caratterizzazione completa della fibra selezionata;

- classazione della fibra *case study* selezionata (1.Regolata; 2.non regolata; 3.EMP, per ottenere tre campioni in risposta alla questione aperta della tossicità/cancerogenicità delle EMP) e applicazione del modello FPTI sulle classi di fibre con dimensioni (lunghezza e diametro) diverse (campioni naturali, fibre respirabili con selezione fibre respirabili usando strumentazione *ad hoc* – acquisto e applicazione?);
- raccolta dati sperimentali e classificazione dei tre campioni classati secondo il **modello FPTI**; aggiungere controllo positivo (crocidolite) e/o negativo (wollastonite NYAG?);
- raccolta dati **IARC 10 KCs** sui **3 campioni** classati;
- correlazione **parametri del modello FPTI** relativi ai **3 campioni** agli **adverse effects** e, a cascata, con i **dati IARC 10 KCs (pathobiological effects)**;
- classificazione finale dei campioni della *case fiber* come cancerogeni: quanti **KCs** (da 1 a 10) sono attivi per quel campione?
- definire per ogni campione quali sono i KCs attivi e quali parametri FPTI li generano;
- proposta di **agenti terapeutici specifici** che inibiscono i singoli KCs (gli agenti terapeutici devono essere specifici in funzione del tipo di fibra che ha causato esposizione, oggi non esiste distinzione nel tipo di trattamento; in pratica, un trattamento per la crocidolite può essere inefficace per il crisotilo e viceversa).

**Si decide che tutte le unità contribuiranno al livello 1 (filone principale). Contestualmente, le unità potranno condurre ricerche in maniera autonoma o condivisa (livello 2, filoni secondari).**

4.Proposte di suddivisione delle linee di ricerca e obiettivi

a) Definizione degli obiettivi in termini di produzione scientifica.

Si decide che l'obiettivo minimo di ogni unità di ricerca locale sia di produrre nr. 3 Articoli scientifici e nr. 3 presentazioni (orali e/o poster) nell'arco del triennio 2020-2022. Gli articoli e le presentazioni possono essere il frutto di iniziative autonome o condivise.

Si puntualizza che al momento non ci sono proposte per partecipazioni a congressi o organizzazione di sessioni dedicate per il 2020.

5.Proposte piani di lavoro delle unità locali per il primo anno

Di seguito vengono illustrate alcune proposte di sperimentazione condivisa (filone principale) o autonoma (filoni secondari) per le varie unità di ricerca.

-WP1: Caratterizzazione delle strutture (cristallografia) delle fibre in tessuti umani con nano/micro-diffrazione a ID11 Grenoble (UNIMORE,UNIPI).

-WP2: Caratterizzazione superficiale fibre con EPR utile per il modello FPTI e per lo studio della reattività superficiale (UNIURB).

-WP2: *“surface iron and its activity, iron crystal-chemistry of the fibres. Surface sensitive spectroscopic methods will then be applied: X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) supported by Electron paramagnetic resonance (EPR) (UNIURB) for the determination of the reactive oxygen species (ROS), namely hydroxyl radicals. The nature of iron-containing impurities at the surface of the fibres will be observed with transmission electron microscopy (TEM) accompanied by electron energy loss spectroscopy (EELS) as chemical probe. The activity of iron in the different iron-rich fibres will be monitored, both ex situ and in situ, using different cell lines (in vitro) to assess the extent of inflammation processes that may have occurred”*. Il parametro nuclearità del Fe va studiato con tecniche specifiche, vedi l'esempio qui sotto:

Letter

# Morphology of the ferritin iron core by aberration corrected scanning transmission electron microscopy

Nan Jian<sup>1</sup>, Miriam Dowle<sup>1</sup>, Richard D Horniblow<sup>2</sup>, Chris Tselepis<sup>2</sup> and Richard E Palmer<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Nanoscale Physics Research Laboratory, School of Physics and Astronomy, University of Birmingham, Birmingham B15 2TT, UK

<sup>2</sup>Institute of Cancer and Genomic Sciences, University of Birmingham, Birmingham, B15 2TT, UK

E-mail: R.E.Palmer@bham.ac.uk

-WP3: test biodurabilità applicati sia alle fibre del filone principale che ai filoni secondari.

-WP4: studiare la cito- e geno-tossicità di fibre grezze vs. fibre “denaturate” (liscivate) per misurare l’effetto del rilascio di metalli (*Trojan horse effect*) e della soluzione lisciviata ricca di metalli (crisotili vs crocidolite vs erionite?) (La sapienza, UNIMORE,UNIPI, UNIVPM).

-WP4: ‘*Trojan horse-type effect*’ specimens with different toxic loads (especially Fe, V, Cr, Mn, Ni) dissolved using the SLF/ALF – crisotilo russo, Balangero, China, Brazil: confronto? E’ possibile studiare la cinetica di rilascio? La tossicità è tempo dipendente? Studiare la tossicità dopo 1 gg, 1 settimana? 1 mese? 6 mesi? “*The rate of ion release will be monitored by determining the ion concentration as a function of time by EPMA, AAS and ICP-MS analyses. The time span of the experiments will be at least 90 days, determined in vitro in 2D cell cultures (see above), and with routine toxicity test (La Sapienza)*”.

-WP5: “*interference of fibrous erionite with the Ca<sup>2+</sup> cross talk on selected fibrous erionite samples (?), mimicking the intracellular environment of the phago-lysosome. Ion exchange will be monitored in vivo when the fibres are in contact with cell cultures during the process of phagocytosis with TEM/EELS and XRF mapping at a synchrotron facility (UNIMORE, La Sapienza)*”. E’ il caso di coinvolgere il gruppo di Ferrara che studia il Ca cross talk (vedi qui sotto)?



Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research

Volume 1864, Issue 6, June 2017, Pages 858-864



Review

## Endoplasmic reticulum-mitochondria Ca<sup>2+</sup> crosstalk in the control of the tumor cell fate

Sonia Missiroli<sup>a</sup>, Alberto Danese<sup>a</sup>, Tommaso Iannitti<sup>b</sup>, Simone Patergnani<sup>a</sup>, Mariasole Perrone<sup>a</sup>, Maurizio Previati<sup>c</sup>, Carlotta Giorgi<sup>a</sup>, Paolo Pinton<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Dept. of Morphology, Surgery and Experimental Medicine, Section of Pathology, Oncology and Experimental Biology, Laboratory for Technologies of Advanced Therapies (LTTA), University of Ferrara, Ferrara, Italy

<sup>b</sup> KWS BioTest, Marine View Office Park, Portishead, Somerset BS20 7AW, UK

<sup>c</sup> Department of Morphology, Surgery and Experimental Medicine, Section of Human Anatomy and Histology, Laboratory for Technologies of Advanced Therapies(LTTA), University of Ferrara, Ferrara, Italy

-WP6: test in vitro di tossicità applicati alle fibre del filone principale o ad altri filoni.

-WP7: In parallelo alla sperimentazione teorica con il modello FPTI, prove di tossicità in vitro 3D (UNIGE) della fibra indagata + standards + glaucofane. Confronto modello 2D vs modello 3D. Differenze vecchi modelli vs nuovi modelli? Uso di linee cellulari alveolari primarie? Organoidi?

-WP7.3: Caratterizzazione fibre tessuti umani vs ratti con micro-Raman (lab e non convenzionali) per comprendere la natura degli "Asbestos Bodies" e cristallinità fibre crisotilo? (UNIFI).

**Si decide che entro la fine dell'anno ogni unità di ricerca locale avanzi una proposta di azione/i nell'ambito del filone principale e filone secondario. Le proposte vanno inviate al coordinatore nazionale che le raccoglierà e le girerà a tutti i componenti del gruppo di lavoro. Le proposte saranno approvate dal gruppo di ricerca durante una seduta telematica, convocata indicativamente per la metà di dicembre.**

6. Sito web

**Si decide di creare un sito web del progetto e di inglobarlo nel sito esistente [fibers.unimore.it](http://fibers.unimore.it).**

7. Varie ed eventuali

Nessuna.