



CAPITOLATO TECNICO CONSULENZA SCIENTIFICA

OGGETTO DEL SERVIZIO –

È richiesta la fornitura di un servizio scientifico per il completamento, ovvero la realizzazione di modelli sperimentali in vivo, e per la realizzazione delle attività sperimentali di studio dell'effetto ipoglicemizzante di estratti di origine vegetali per lo studio della patologia diabetica, avviati internamente con il progetto NBFC.

Il servizio, da realizzare con risorse, know-how e competenze al momento non rinvenibili in Innomed Srl, consiste nella realizzazione, su un totale di 120 topi, di modelli sperimentali di diabete mediante la somministrazione di diete ad alto contenuto di grassi e carboidrati.

La caratterizzazione della patologia diabetica e del danno d'organo indotto da diabete in-vivo ed ex-vivo dovrà comprendere le seguenti modalità:

1. Caratterizzazione dei livelli circolanti di glucosio ed insulina e analisi delle curve di assorbimento in Glucose Tolerance Test (GTT) e Insulin Tolerance Test (ITT) e caratterizzazione settimanale dei livelli di glucosio circolanti mediante glucose strip.
2. Caratterizzazione completa del fenotipo cardiovascolare per la valutazione ecografica di parametri di funzione sistolica (Ejection Fraction; Fractional Shortening; Relative Wall Thickness), diastolica (E/e'), di rigidità vascolare (Pulse Wave Velocity).
3. Caratterizzazione strutturale e metabolica del grasso viscerale e subcutaneo mediante imaging ad alta risoluzione in vivo con risonanza magnetica.
4. Caratterizzazione del danno cerebrale indotto dalla patologia metabolica mediante risonanza magnetica cerebrale microstrutturale e di perfusione.
5. Valutazione del fenotipo cognitivo mediante sistemi di tracking automatico del topo.
6. Caratterizzazione del fenotipo immunitario splenico mediante citometria a flusso ad alto numero di parametri (minimo 20).
7. Prelievo di organi bersaglio del danno diabetico per lo studio mediante microscopia e per analisi proteomiche spaziali.

Saranno ritenute ammissibili solo proposte che potranno rispondere integralmente a tutti i punti del seguente capitolato, pena l'esclusione dal bando.

La fornitura totale è stimata in € 474.000,00.

Dettaglio delle forniture:

- A. Induzione del modello di diabete mediante somministrazione di dieta e caratterizzazione dei livelli circolanti di glucosio ed insulina e analisi delle curve di assorbimento in Glucose Tolerance Test (GTT) e Insulin Tolerance Test (ITT) e caratterizzazione settimanale dei livelli di glucosio circolanti mediante glucose strip.

La fornitura in oggetto richiede il monitoraggio settimanale dei livelli di glucosio circolanti in topi sottoposti a dieta ad alto contenuto di grassi e carboidrati, addizionate con estratti di origine vegetale e acarbosio.

Gli output richiesti della fornitura in oggetto sono:

1. Acquisto e mantenimento di modelli murini sperimentali (C57BL/6J).
2. Induzione della patologia diabetica mediante somministrazione di dieta ad alto contenuto di grassi e carboidrati per 4 (60 topi) e 12 settimane (60 topi).
3. Monitoraggio settimanale dei livelli di glucosio circolanti di ogni topo in sperimentazione, comprensivi di reportistica grafica e analisi statistica per evidenziare differenze nella gestione del glucosio circolante a seconda della dieta somministrata.
4. Esecuzione di esperimenti di GTT e ITT per l'analisi delle curve di carico glicemico e insulinico per ogni topo in sperimentazione, comprensivi di reportistica grafica e analisi statistica per evidenziare differenze metaboliche indotte dal diabete e modulate dall'assunzione di estratti di origine vegetale.

La stima economica di questo output sperimentale si configura in € 48.000 (60 topi x 4 settimane; 60 topi x 16 settimane, secondo un costo unitario di riferimento di 40€/settimana/topo).

- B. Caratterizzazione completa del fenotipo cardiovascolare per la valutazione ecografica di parametri di funzione sistolica, diastolica e di rigidità vascolare

La fornitura in oggetto richiede il monitoraggio e la valutazione del fenotipo cardiovascolare in topi sottoposti a dieta ad alto contenuto di grassi e carboidrati, addizionate con estratti di origine vegetale e acarbosio. In particolare, viene richiesto uno studio basale ed uno studio terminale in ogni topo sottoposto a sperimentazione, al fine di valutare cambiamenti indotti dal diabete e l'effetto che l'assunzione di estratti vegetali ha sul fenotipo cardiovascolare.

Gli output richiesti dalla fornitura in oggetto sono:

1. Valutazione ecografica al basale e terminale dei parametri di funzione sistolica, mediante imaging cardiovascolare in proiezione parasternale del cuore acquisito in asse corto, asse lungo. I parametri quantitativi richiesti sono i seguenti: frazione di eiezione, relative wall thickness, spessore della parete settale sistolico e diastolico, spessore della parete posteriore cardiaca sistolico e diastolico, frazione di accorciamento, volume ventricolare sistolico e diastolico.
2. Valutazione ecografica basale e terminale dei parametri di funzione diastolica mediante imaging cardiovascolare in proiezione apicale in imaging a 4-camere per l'acquisizione delle velocità di flusso di riempimento del ventricolo (e) e velocità tissutale dell'annulus valvolare (e').
3. Valutazione ecografica basale e terminale dei parametri di inspessimento delle pareti vascolari dell'aorta ascendente e addominale mediante imaging parasternale e addominale. I parametri quantitativi richiesti sono i seguenti, distinti per aorta ascendente e addominale: diametro aortico in telesistole e telediastole, pulse-wave velocity, spessore della parete vascolare.
4. I parametri quantitativi richiesti devono in ogni caso essere corredati di report grafico e analisi statistica per evidenziare differenze cardiovascolari indotte dal diabete e modulate dall'assunzione di estratti di origine vegetale.

La stima economica di questo output sperimentale si configura in € 96.000 (120 topi; 2 time point per topo; secondo un valore base di riferimento 400€ per time point)

C. Caratterizzazione strutturale e metabolica del grasso viscerale e subcutaneo mediante imaging ad alta risoluzione in vivo con risonanza magnetica.

La fornitura in oggetto richiede la caratterizzazione mediante strumenti di imaging traslazionale come la risonanza magnetica nucleare dei tessuti adiposi in topi sottoposti a dieta ad alto contenuto di grassi e carboidrati, addizionate con estratti di origine vegetale e acarbosio. In particolare, viene richiesto uno studio basale ed uno studio terminale in ogni topo sottoposto a sperimentazione, al fine di valutare cambiamenti indotti dal diabete e l'effetto che l'assunzione di estratti vegetali ha sul fenotipo metabolico dei tessuti adiposi e sulla loro composizione e sulla loro attività metabolica.

Gli output richiesti dalla fornitura in oggetto sono:

1. Valutazione di imaging basale e terminale del volume e della densità del grasso subcutaneo e viscerale mediante sequenze di risonanza magnetica per l'imaging strutturale del grasso (DIXON), corredate da segmentazioni mirate a descrivere forma e volume dei depositi di grasso nei differenti distretti corporei.
2. Valutazione spettroscopica basale e terminale mediante spettroscopia puntuale (PRESS) in grasso adiposo e viscerale, corredate da quantificazione dei metaboliti presenti nei differenti distretti adiposi corporei mediante strumenti di analisi spettroscopica (FSL-MRS o LCModel).

3. I parametri quantitativi richiesti devono in ogni caso essere corredati di report grafico e analisi statistica per evidenziare differenze metaboliche e strutturali dei tessuti adiposi indotte dal diabete e modulate dall'assunzione di estratti di origine vegetale.

La stima economica di questo output sperimentale si configura in € 120.000 (120 topi, 2 time point per topo; secondo un valore base di riferimento di 500€ per time point).

D. Caratterizzazione del danno cerebrale indotto dalla patologia metabolica mediante risonanza magnetica cerebrale microstrutturale e di perfusione.

La fornitura in oggetto richiede la caratterizzazione mediante strumenti di imaging traslazionale come la risonanza magnetica nucleare dei tessuti cerebrali in topi sottoposti a dieta ad alto contenuto di grassi e carboidrati, addizionate con estratti di origine vegetale e acarbosio. In particolare, viene richiesto uno studio basale ed uno studio terminale in ogni topo sottoposto a sperimentazione, al fine di valutare cambiamenti indotti dal diabete e l'effetto che l'assunzione di estratti vegetali ha sul fenotipo cerebrovascolare sulla efficacia del coupling neurovascolare.

Gli output richiesti dalla fornitura in oggetto sono:

1. Valutazione di imaging basale e terminale del volume e della perfusione dei tessuti cerebrali mediante sequenze che non facciano uso di contrasti esogeni (Arterial Spin Labeling – ASL), corredati da mappe di perfusione cerebrale con una valutazione quantitativa della perfusione tissutale nei differenti distretti di interesse (i.e. Corteccia, Talamo, Ipotalamo)
2. Valutazione di imaging basale e terminale della microstruttura della materia bianca mediante imaging a tensore di diffusione (DTI), corredati da mappe di diffusività e integrità della microstruttura della materia bianca.
3. I parametri quantitativi richiesti devono in ogni caso essere corredati di report grafico e analisi statistica per evidenziare differenze emodinamiche e strutturali dei tessuti cerebrali indotte dal diabete e modulate dall'assunzione di estratti di origine vegetale.

La stima economica di questo output sperimentale si configura in € 120.000 (120 topi, 2 time point per topo; secondo un valore base di riferimento 500€ per time point).

E. Valutazione del fenotipo cognitivo mediante sistemi di tracking automatico del topo.

La fornitura in oggetto richiede la caratterizzazione mediante strumenti di tracking automatico del comportamento del topo del fenotipo cognitivo in topi sottoposti a dieta ad alto contenuto di grassi e carboidrati, addizionate con estratti di origine vegetale e acarbosio. In particolare, viene richiesto uno studio terminale in ogni topo sottoposto a

sperimentazione, al fine di valutare cambiamenti indotti dal diabete e l'effetto che l'assunzione di estratti vegetali ha sulle capacità cognitive.

Gli output richiesti dalla fornitura in oggetto sono:

1. Valutazione terminale delle capacità di memoria spaziale mediante la somministrazione di test appropriati come il Morris Water Maze, corredati da mappe di stazionamento e traiettorie di movimento dei topi con una valutazione quantitativa della velocità di movimento, velocità di individuazione della piattaforma, stazionamento in area di tigmotassi.
2. Valutazione terminale delle capacità mnemoniche generali mediante la somministrazione di test appropriati come il Novel Object Recognition, mappe di stazionamento e traiettorie di movimento dei topi con una valutazione quantitativa della velocità di movimento, tempo di esplorazione per singoli oggetti, stazionamento in area di tigmotassi.
3. I parametri quantitativi richiesti devono in ogni caso essere corredati di report grafico e analisi statistica per evidenziare differenze cognitive indotte dal diabete e modulate dall'assunzione di estratti di origine vegetale.

La stima economica di questo output sperimentale si configura in € 18.000 (60 topi; secondo un valore base di riferimento 300€ per topo)

F. Caratterizzazione del fenotipo immunitario splenico mediante citometria a flusso ad alto numero di parametri (minimo 20)

La fornitura in oggetto richiede la caratterizzazione mediante strumenti di citometria a flusso ad alto numero di parametri delle caratteristiche del sistema immunitario di topi sottoposti a dieta ad alto contenuto di grassi e carboidrati, addizionate con estratti di origine vegetale e acarbosio. In particolare, viene richiesto uno studio terminale in ogni topo sottoposto a sperimentazione, al fine di valutare cambiamenti indotti dal diabete e l'effetto che l'assunzione di estratti vegetali ha sul profilo immunitario e infiammatorio.

Gli output richiesti dalla fornitura in oggetto sono:

1. Valutazione mediante citometria a flusso ad alto numero di parametri del profilo immunitario splenico per caratterizzare contemporaneamente abbondanza e caratteristiche delle seguenti popolazioni immunitarie: Linfociti T, B, NK, Macrofagi e Monociti.
2. Valutazione mediante citometria a flusso ad alto numero di parametri del profilo immunitario del tessuto adiposo per caratterizzare contemporaneamente abbondanza e caratteristiche delle seguenti popolazioni immunitarie: Linfociti T, B, NK, Macrofagi e Monociti.

3. I parametri quantitativi richiesti devono in ogni caso essere corredati di report grafico e analisi statistica per evidenziare differenze immunoinfiammatorie indotte dal diabete e modulate dall'assunzione di estratti di origine vegetale.

La stima economica di questo output sperimentale si configura in € 60.000 (120 topi; secondo un valore base di riferimento 500 € per topo)

G. Prelievo di organi bersaglio del danno diabetico per lo studio mediante microscopia e per analisi proteomiche spaziali.

La fornitura in oggetto richiede il prelievo al sacrificio dei tessuti bersaglio del danno diabetico (i.e. cervello, reni, pancreas, tessuto adiposo, cuore) per l'analisi mediante strumenti di proteomica spaziale e microscopia volumetrica già in dotazione all'azienda. In particolare, viene richiesto il prelievo di organi bersaglio selezionati sulla base dei risultati dei precedenti punti del capitolato per ottimizzare le analisi.

Gli output richiesti dalla fornitura in oggetto sono:

1. Sacrificio dei topi sottoposti a sperimentazione e prelievo degli organi bersaglio. Inclusioni degli organi nei mezzi adeguati per a chiarificazione o per lo studio di proteomica spaziale da eseguire mediante microscopio a foglio di luce (Mesospim, assemblaggio interno Innomed), e mediante Phenocycler (Akoya Inc.)

La stima economica di questo output sperimentale si configura in € 12.000 (120 topi; secondo un valore base di riferimento 100€ per topo).

H. Cronoprogramma di esecuzione

Milestone 1: Completamento dello studio su 60 soggetti sperimentali, modello di dieta a 4 settimane. La milestone si riterrà completa alla trasmissione dei risultati di ogni attività sperimentale prevista dal capitolato.

Milestone 2: Avanzamento parziale (50%) dello studio su 60 soggetti sperimentali, modello di dieta a 16 settimane. La milestone si riterrà completa alla trasmissione dei risultati del primo time point previsto per ogni attività sperimentale prevista dal capitolato.

Milestone 3: Completamento dello studio su 60 soggetti sperimentali, modello di dieta a 16 settimane. La milestone si riterrà completa alla trasmissione dei risultati di ogni attività sperimentale prevista dal capitolato.

In ogni caso tutte le prestazioni richieste dovranno essere completate entro il 31/12/2025.

I. Pagamenti

La liquidazione del corrispettivo avverrà sulla base del visto di conformità del responsabile del progetto/DEC previa positiva acquisizione del DURC, secondo i seguenti step:

- 35% dell'importo contrattuale alla conclusione della Milestone 1;
- 35% dell'importo contrattuale alla conclusione della Milestone 2;
- Saldo finale del 30% alla conclusione della Milestone 3;

Parametri da considerare per valutare l'offerta tecnica: 80 punti:

- a. Caratteristiche dei macchinari a disposizione per esperimenti richiesti: 25 PUNTI;
- b. Capacità documentata di ottenere e gestire autorizzazioni alla sperimentazione animale di natura simile: 25 PUNTI;
- c. Esperienze simili già realizzate e pubblicazioni scientifiche a supporto: 20 PUNTI;
- d. Risorse umane impiegate: 10 PUNTI.

Peso dell'offerta economica: 20 punti.

INNOMED Srl
Il Responsabile del Progetto
Luca Petrangelo