



UNIVERSITÀ
POLITECNICA
DELLE MARCHE

Dipartimento
di Scienze
della Vita
e dell'Ambiente
DISVA

***Relazione annuale dell'attività svolta da
Gennaio a Dicembre 2025***

Marica Mezzelani

***Ricercatrice a tempo determinato in tenure track (RTT),
Gruppo Scientifico Disciplinare 05/BIOS-10 (Biologia cellulare e
applicata), Settore scientifico disciplinare BIOS-10/A (Biologia
cellulare e applicata)***

***Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente
Università Politecnica delle Marche***

Ancona, lì 31/12/2025

Firma

Marica Mezzelani



Sommario

1. Attività di ricerca	3
2. Partecipazione a Programmi di Ricerca	8
3. Richieste di finanziamento	8
4. Attività di referaggio.....	9
5. Partecipazione a congressi e convegni.....	9
6. Produzione Scientifica	9
7. Attività di didattica frontale.....	11
8. Attività di divulgazione e di terza missione	13
9. Responsabilità per il Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente (Università Politecnica delle Marche).....	14



La presente relazione annuale prende in considerazione le attività svolte nel primo anno da Ricercatrice a tempo determinato in tenure track (RTT), dal 01/01/2025 al 31/12/2025

1. Attività di ricerca

Il primo anno di attività da Ricercatrice a tempo determinato in tenure track (RTT)

ex art. 24, comma 3, della Legge n° 240/2010 si è svolta presso il Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università Politecnica delle Marche – Ancona.

Nel corso di questo primo anno, l'attività di ricerca ha previsto lo svolgimento di indagini finalizzate alla caratterizzazione degli effetti e dei meccanismi di azione a livello molecolare biochimico e cellulare di composti farmaceutici e molecole bioattive in specie modello non-target.

Nello specifico, gli studi condotti hanno riguardato:

1) *Studio dei meccanismi di risposta cellulare indotti da composti farmaceutici nella specie non-target Mytilus galloprovincialis*: integrazione e confronto tra approcci *in vivo* ed *ex vivo*.

In linea con il principio delle 3R (Reduce, Refine, Replace) e con la necessità di sviluppare approcci effect-based sensibili, la ricerca ha implementato e validato la tecnica *ex vivo* delle Precision-Cut Tissue Slices (PCTS) su ghiandola digestiva di *Mytilus galloprovincialis*. Questo modello permette di preservare l'architettura tissutale e le comunicazioni intercellulari, offrendo un sistema sperimentale di elevata rilevanza fisiologica per lo studio dei meccanismi d'azione (MoA) dei farmaci, riducendo al contempo la dipendenza dai test *in vivo*.

Il primo studio ha previsto un approccio comparativo tra l'esposizione tradizionale *in vivo* e la tecnica *ex vivo* per valutare gli effetti di due antidiabetici (metformina e rosiglitazone) e di un regolatore lipidico (gemfibrozil). Sperimentalmente, l'esposizione *in vivo* (14 giorni a 2.5 µg/L) ha evidenziato un effetto a carico del sistema immunitario,



documentato dalla significativa riduzione della stabilità delle membrane lisosomiali (LMS) e dall'alterazione del rapporto tra granulociti e ialinociti. A livello del bilancio dell'omeostasi ossidoriduttiva, la metformina ha indotto un incremento significativo delle attività enzimatiche della catalasi (CAT), della glutatione S-transferasi (GST) e della glutatione perossidasi (GPx), indicando l'attivazione delle difese antiossidanti. Al contrario, il gemfibrozil ha causato una riduzione della capacità antiossidante totale (TOSC) nei confronti dei radicali perossilico e idrossilico, suggerendo un potenziale indebolimento dei sistemi di difesa. Tali alterazioni sono state confermate dall'aumento dei livelli di lipofuscina e malondialdeide (MDA), biomarker di perossidazione lipidica. È stato inoltre osservato un accumulo di lipidi neutri in risposta a rosigitazione e gemfibrozil; questo dato, apparentemente in contrasto con l'effetto ipolipemizzante atteso nelle specie target, suggerisce che nei molluschi l'accumulo lipidico possa essere una risposta aspecifica allo stress ossidativo piuttosto che un effetto metabolico diretto. Parallelamente, le PCTS sono state esposte agli stessi composti per 48 ore ai dosaggi più elevati di 500-1000 $\mu\text{g/L}$ per caratterizzare meglio i meccanismi di risposta cellulare. I risultati hanno confermato la sensibilità del modello: in particolare, la metformina ha mostrato un profilo di risposta coerente con i dati *in vivo*, caratterizzato da lievi modifiche dell'attività CAT ma da un aumento marcato di lipofuscina e lipidi neutri, validando la capacità delle PCTS di riflettere i processi biochimici complessi.

Nel secondo studio, l'indagine si è concentrata esclusivamente sul modello PCTS per approfondire le risposte dose-dipendenti indotte da metformina, fluoxetina (SSRI) e diclofenac (FANS), molecola quest'ultima inclusa nella Watch List (EU 2025/439). Le sezioni di tessuto sono state esposte per 48 ore a un gradiente di concentrazioni crescente (0.1, 1, 10 e 100 $\mu\text{g/L}$), selezionando un range che include dosaggi ambientalmente realistici. I risultati hanno mostrato che tutti i composti inducono risposte dose-risposta specifiche: la fluoxetina ha causato variazioni significative nell'attività della CAT e nel contenuto di lipofuscina, mentre il diclofenac si è rivelato la molecola biologicamente più reattiva. Quest'ultimo ha indotto effetti evidenti sulla capacità antiossidante totale, un



incremento nella produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) e alterazioni nel contenuto di lipidi neutri anche alle dosi più basse testate. L'analisi integrata di questi biomarker ha dimostrato che la tecnica PCTS è in grado di discriminare tra diversi meccanismi d'azione tossica, confermandosi uno strumento etico, innovativo e altamente efficace per la caratterizzazione degli effetti sub-letali dei farmaci e per il miglioramento dei protocolli di monitoraggio e valutazione del rischio ambientale negli ecosistemi costieri.

2) *Meccanismi di risposta cellulare indotti da miscele di contaminanti convenzionali e emergenti nel mitilo mediterraneo Mytilus galloprovincialis*

La complessa problematica dell'inquinamento da farmaci è ulteriormente aggravata dai potenziali esiti avversi causati dalla co-presenza in ambiente di miscele di più contaminanti chimici. Tali effetti risultano difficilmente prevedibili, poiché interazioni di tipo additivo, sinergico o antagonistico possono modulare la tossicità complessiva nelle specie marine. L'importanza di studiare la presenza e gli effetti delle miscele di composti chimici è stata sottolineata anche da diverse azioni a livello europeo, che evidenziano l'urgente necessità di sviluppare procedure ad hoc per la valutazione del rischio, per poter mettere a disposizione degli strumenti utili per lo sviluppo di nuove politiche ambientali. In questo contesto, il presente piano sperimentale è stato ideato con l'obiettivo di investigare gli effetti interattivi tra contaminanti convenzionali e emergenti, basandosi su dati ambientali recenti al fine di simulare una pressione chimica ambientalmente realistica. Il disegno sperimentale ha previsto l'esposizione dei mitili a tre miscele distinte e alla loro combinazione simultanea:

-Miscela di Farmaci (Emergenti): Composta da Sertralina, Diclofenac, Fluoxetina e Valsartan. Queste molecole sono state selezionate per l'elevata frequenza di ritrovamento e bioaccumulo in *M. galloprovincialis* in aree costiere antropizzate.

-Miscela di Metalli Pesanti (Legacy): Include Arsenico, Cadmio, Piombo e Nickel, con dosi calibrate per riflettere livelli ambientalmente realistici secondo dati di letteratura.



-Miscela di idrocarburi policiclici aromatici, IPA (Legacy): costituita da Pirene, Crisene, Benzo(a)antracene e Naftalene, selezionati tra IPA prioritari per persistenza e monitoraggio ambientale.

L'approccio comparativo tra le singole miscele e la loro combinazione ha permesso di osservare come la componente farmaceutica possa agire come modulatore della tossicità degli inquinanti convenzionali, sottolineando l'importanza di integrare lo studio delle miscele complesse nelle strategie di monitoraggio e tutela della biodiversità marina.

3) *Studio della citotossicità di PFAS su un modello cellulare epatico umano*

Negli ultimi anni, l'EFSA e la comunità scientifica hanno rivolto particolare attenzione ai PFAS, poiché destano una crescente preoccupazione per il loro potenziale effetto negativo sulla salute umana. Numerosi studi hanno evidenziato che l'esposizione ai PFAS è associata a diversi rischi per la salute, dovuti alla loro capacità di essere facilmente assorbiti e distribuiti all'interno dell'organismo. Tali effetti includono cancerogenicità, malattie metaboliche, patologie renali, alterazioni del sistema immunitario e genotossicità. Le autorità pubbliche dell'Unione Europea e degli Stati membri stanno attualmente lavorando per rendere le normative sui PFAS sempre più stringenti. Parallelamente, vengono sviluppate alternative volte a soddisfare le esigenze del mercato, riducendo al contempo l'impatto ambientale e individuando le misure più appropriate per mitigare i potenziali rischi per la salute umana derivanti dall'esposizione a tali sostanze. In questo contesto, lo scopo del presente studio è stato quello di indagare in modo approfondito la citotossicità di due PFAS, il PFOA (acido perfluorooottanoico), appartenente ai composti a catena lunga, ed il PFPeA (acido perfluoropentanoico), appartenente ai composti a catena corta, recentemente proposto come alternativa considerata potenzialmente meno dannosa. L'obiettivo principale è quello di valutare e confrontare gli effetti cellulari indotti da questi due composti su una linea cellulare epatica umana immortalizzata (IHH-EHMs), al fine di comprendere se i PFAS a catena corta possano effettivamente presentare un profilo tossicologico più favorevole rispetto ai loro analoghi a catena lunga. La linea cellulare epatica umana immortalizzata (IHH-



EHMs), è stata scelta perché rappresenta un modello cellulare *in vitro* in grado di riprodurre in modo più fedele le risposte tipiche di un fegato umano sano, aumentando così la rilevanza biologica dei risultati ottenuti. Alla luce di queste considerazioni, è stato elaborato un piano sperimentale in cui la linea cellulare IHH-EHMs è stata esposta a concentrazioni crescenti di PFOA e PFPeA (1, 10, 100, 500 e 1000 μM). L'utilizzo di concentrazioni relativamente elevate rispetto ai livelli di esposizione umana è giustificato dal fatto che gli studi *in vitro* impiegano spesso range di concentrazioni più alti per poter evidenziare in tempi brevi eventuali effetti citotossici e meccanismi cellulari dose-dipendenti. Al termine dell'esposizione, sono state condotte diverse analisi volte a valutare l'insorgenza di alterazioni a livello cellulare. In particolare, è stata esaminata la compromissione della vitalità e della proliferazione cellulare in risposta a concentrazioni crescenti di PFAS, valutando eventuali riduzioni della sopravvivenza e modificazioni dei tempi di crescita. È stato inoltre monitorato l'eventuale incremento delle specie reattive dell'ossigeno (ROS) come indicatore di stress ossidativo, potenziale meccanismo alla base della citotossicità osservata. Infine, è stata analizzata l'attivazione dei diversi percorsi di morte cellulare, distinguendo tra apoptosi precoce, tardiva e necrosi, allo scopo di caratterizzare in modo più approfondito gli effetti dei PFAS sulle cellule epatiche. Nel complesso, i risultati di questo lavoro rappresentano un contributo alla comprensione del profilo tossicologico dei PFAS a catena corta, come il PFPeA, sempre più adottati come alternative ai PFAS a catena lunga. L'analisi condotta intende offrire elementi utili a valutare in maniera più consapevole la reale sostenibilità di tale sostituzione, fornendo informazioni sui potenziali effetti cellulari che questi composti possono esercitare e contribuendo così al dibattito scientifico riguardante la sicurezza d'impiego delle nuove generazioni di PFAS.



2. Partecipazione a Programmi di Ricerca

Durante questo anno di attività ho partecipato ai seguenti programmi di ricerca a carattere internazionale e nazionale:

- Programma di Ricerca dal titolo “National Biodiversity Future Center” della Missione 4, Componente 2, Investimento 1.4 – “Potenziamento strutture di ricerca e creazione di “campioni nazionali di R&S” su alcune Key Enabling Technologies”, finanziato dall’Unione Europea – Next Generation EU, nell’ambito del Piano Nazionale di Ripresa e Resilienza (PNRR).
- Progetto di Ricerca Finalizzata del Ministero della Salute: “Microplastics in edible aquatic organisms: ecotoxicological effects, transfer of chemical and biological contaminants and susceptibility to bacteria biodegradation, PLASTICON” rf-2019-12370587. Prof.ssa Stefania Gorbi.
- Analisi delle risposte molecolari e cellulari in organismi marini esposti a farmaci ambientali. Ricerca Scientifica di Ateneo 2022 (Coordinatore Dott.ssa Marica Mezzelani).
- Insorgenza di alterazioni subletali causate dall’interazione di composti farmaceutici in specie modello non-target. Ricerca Scientifica di Ateneo 2023 (Coordinatore Dott.ssa Marica Mezzelani).
- Studio dei meccanismi di azione di miscele di composti farmaceutici in specie modello non-target. Ricerca Scientifica di Ateneo 2024 (Coordinatore Dott.ssa Marica Mezzelani).

3. Richieste di finanziamento

- Analisi delle risposte molecolari e cellulari in organismi marini esposti a miscele di contaminanti emergenti. Ricerca Scientifica di Ateneo 2024 (Coordinatore Dott.ssa Marica Mezzelani).



4. Attività di referaggio

In quest'anno ho svolto attività di referaggio per le seguenti riviste internazionali: Marine Environmental Research (Elsevier), Chemosphere (Elsevier), Science of the Total Environment (Elsevier), Marine Pollution Bulletin (Elsevier), Journal of Hazardous Materials (Elsevier), PeerJ.

5. Partecipazione a congressi e convegni

5.1 Presentazioni orali a congressi nazionali su invito

- **M. Mezzelani** "Presenza ed effetti dei composti farmaceutici negli organismi marini". Invited speaker al Convegno "Farmaci veterinari: valutazione del rischio ambientale tra normativa e ricerca" organizzato dall' Istituto Superiore di Sanità e Ministero della Salute, 25 Maggio, 2025, Roma, Italy.

5.2 Presentazioni orali a congressi nazionali

- **Mezzelani, M.**, Panni, M., d'Errico, G., Di Carlo, M., Nardi, A., Benedetti, M., Gorbi, S., Regoli, F. Biological responses to pharmaceuticals in a non-target marine organism: in vivo–ex vivo insights. Platform presentation at 4th SETAC Italian Branch. 13-14 Ottobre, 2025, Napoli, Italy.

5.3 Partecipazione a congressi

- Michela Panni, **Marica Mezzelani**, Maria Elisa Giuliani, Paola Nisi Cerioni, Alessandro Nardi, Maura Benedetti, Ernesto Mollo, Francesco Regoli, Stefania Gorbi. "Precision-Cut Tissue Slices (PCTS) as a sustainable and innovative ex vivo approach to assess the impact of emerging pollutants". ENHANCE, 25-26th June 2025, virtual

6. Produzione Scientifica

Ad oggi sono autrice 25 pubblicazioni scientifiche di cui 15 come primo autore su riviste ISI con IF con un totale di 868 citazioni e un H-index= 14 (riferimento Scopus <http://www.scopus.com>).

SCOPUS AUTHOR ID: 56440171300



ORCID <https://orcid.org/0000-0002-0657-3681>

Di seguito viene riportato l'elenco delle pubblicazioni per l'anno 2025

Articoli su riviste ISI

1. **Mezzelani M**, El Idrissi O, Panni M, d'Errico G, Nardi A, Benedetti M, Di Carlo M, Fattorini D, Ferraresso S, Rovere GD, Bernardini I, Milan M, Gorbi S, Regoli F. Mechanisms of cellular and molecular responses in *Mytilus galloprovincialis* exposed to human pharmaceuticals ibuprofen, paroxetine and their mixture. Environ Res. 2025 Nov 1;284:122239. doi: 10.1016/j.envres.2025.122239. JIF percentile: Q1.
2. *Panni M, ***Mezzelani M**, Giuliani ME, Nisi Cerioni P, Nardi A, Mollo E, Regoli F, Benedetti M, Gorbi S. Mechanisms of Cellular Responses of the Natural Alkaloid Caulerpin and Its Similarities with the Lipid-Lowering Agent Fenofibrate in *Mytilus galloprovincialis*. Toxins doi: 10.3390/toxins17100512. JIF percentile: Q1.
3. Nardi A, Vivani V, Benedetti M, **Mezzelani M**, d'Errico G, Regoli F, Gorbi S. Cellular targets of glyphosate, AMPA and their mixture in *Mytilus galloprovincialis*: Mechanisms of action and long-lasting effects. J Hazard Mater. 2025 496:139180. doi: 10.1016/j.jhazmat.2025. JIF percentile: Q1.
4. Monticelli G, Nardi A, **Mezzelani M**, Bernardini I, Dalla Rovere G, El Idrissi O, Ferraresso S, Vivani V, Benedetti M, Gorbi S, Peruzza L, Bargelloni L, Patarnello T, Regoli F, Milan M. Transcriptomic and microbiota responses in *Mytilus galloprovincialis* exposed to environmental concentrations of caffeine and cocaine. Aquat Toxicol. 2025 286:107458. doi: 10.1016/j.aquatox.2025.107458. JIF percentile: Q1.
5. García-Pimentel MM, **Mezzelani M**, Valdés NJ, Giuliani ME, Gorbi S, Regoli F, León VM, Campillo JA. Integrative oxidative stress biomarkers in gills and digestive gland of the combined exposure to citalopram and bezafibrate with polyethylene microplastics on mussels *Mytilus galloprovincialis*. Environ Pollut. 2025 366:125508. doi: 10.1016/j.envpol.2024.125508. JIF percentile: Q1.



6. *Bernardini I, ***Mezzelani M**, Panni M, Dalla Rovere G, Nardi A, El Idrissi O, Peruzza L, Gorbi S, Ferraresso S, Bargelloni L, Patarnello T, Regoli F, Milan M. Transcriptional modulation in Mediterranean Mussel *Mytilus galloprovincialis* following exposure to four pharmaceuticals widely distributed in coastal areas. *Aquat Toxicol.* 2025 279:107255. doi: 10.1016/j.aquatox.2025.107255. JIF percentile: Q1.

7. Attività di didattica frontale

Nel corso dell'anno accademico 2025-2026 ho svolto:

- attività didattica (6 CFU, 48 ore) in qualità di docente titolare del corso di Laboratorio di Biologia Applicata A-L, s.s.d. BIOS-10/A insegnamento fondamentale nell'ambito del Corso di Laurea in Scienze Biologiche.

7.1 Partecipazione a Commissioni d'esame

Nel corso dell'anno 2025 ho fatto parte delle seguenti commissioni d'esame:

- Laboratorio di Biologia M-Z (s.s.d. BIOS-10/A), Corso di Laurea Triennale in Scienze Biologiche, (Docente Titolare Prof.ssa Stefania Gorbi);
- Laboratorio di Biologia Marina A-L (s.s.d. BIOS-10/A), Corso di Laurea Triennale in Scienze Biologiche, (Docente Titolare Prof.ssa Maura Benedetti);
- Corso integrato di Chimica analitica strumentale e Laboratorio di Biologia A-L (s.s.d. BIOS-10/A) (modulo Laboratorio di Biologia A-L, s.s.d. BIOS-10/A), Corso di Laurea Triennale in Scienze Biologiche, (Docente Titolare Prof.ssa Maura Benedetti);
- Laboratorio di Biologia Marina M-Z (s.s.d. BIOS-10/A), Corso di Laurea Triennale in Scienze Biologiche, (Docente Titolare Prof.ssa Stefania Gorbi);
- Corso integrato di Chimica analitica strumentale e Laboratorio di Biologia M-Z (s.s.d. BIOS-10/A) (modulo Laboratorio di Biologia M-Z, s.s.d. BIOS-10/A), Corso di Laurea Triennale in Scienze Biologiche, (Docente Titolare Prof.ssa Stefania Gorbi).
- RISCHIO BIOLOGICO ED ECOLOGICO, Laurea Magistrale in Rischio Ambientale e Protezione Civile; sostenibilità ambientale e protezione civile.



- RISCHIO BIOLOGICO ED ECOLOGICO, Laurea Magistrale in Sostenibilità Ambientale e Protezione Civile.
- RISCHIO BIOLOGICO ED ECOLOGICO, Laurea Specialistica in Sostenibilità Ambientale E Protezione Civile.
- Lingua Inglese, Laurea Triennale Scienze Biologiche.
- Lingua Inglese, Laurea Triennale Scienze Biologiche D.M. 509/99.
- Lingua Inglese, Laurea Triennale Scienze del Controllo Ambientale e della Protezione Civile.
- Lingua Inglese, Laurea Triennale Scienze Ambientali e Protezione Civile.
- Commissione Esami di Laurea Triennale Scienze Biologiche.
- Commissione Esami di Laurea Magistrale Biologia Marina.

7.2 Attività di supporto agli studenti in qualità di Relatore e Correlatore di Tesi di Laurea, o come Tutor di tirocinio di formazione ed orientamento

Nel corso dell'anno 2025 ho svolto attività di tutoraggio agli studenti per la preparazione di tesi di Laurea triennale, Magistrale sperimentale e per le attività di tirocinio formazione ed orientamento.

Nello specifico sono stata Relatrice delle seguenti tesi:

1. Laurea Magistrale in Biologia Marina del Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente dell'Università Politecnica delle Marche della studentessa Elena Alfero dal titolo: "Effects of human pharmaceuticals in *Mytilus galloprovincialis*: the case study of gemfibrozil, metformin and rosiglitazone."
2. Master di primo livello in Biologia Marina del Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente dell'Università Politecnica delle Marche della studentessa Anna Massari dal titolo: "Presenza e distribuzione dei composti farmaceutici negli ambienti marini".
3. Laurea Magistrale in Scienze della Nutrizione e dell'Alimentazione del Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente dell'Università Politecnica



delle Marche della studentessa Clementi Ambra dal titolo: “Studio della citotossicità di PFAS su un modello cellulare epatico umano”.

4. Laurea Triennale in Scienze Biologiche del Dipartimento di Scienze della Vita e dell’Ambiente dell’Università Politecnica delle Marche della studentessa Bonvini Maria Vittoria dal titolo “Microplastics are present in women's and cow's follicular fluid and polystyrene microplastics compromise bovine oocyte function *in vitro*”
5. Laurea Triennale in Scienze Biologiche del Dipartimento di Scienze della Vita e dell’Ambiente dell’Università Politecnica delle Marche dello studente Fontanili Fabio dal titolo “*In vivo* mercury (de)metilation metabolism in cephalopods under different pCo2 scenarios”.
6. Laurea Triennale in Scienze Biologiche del Dipartimento di Scienze della Vita e dell’Ambiente dell’Università Politecnica delle Marche della studentessa Valeria Lodolini dal titolo “Production improvements of a dual-targeting protein against malignant pleural mesothelioma”.
7. Laurea Triennale in Scienze Biologiche del Dipartimento di Scienze della Vita e dell’Ambiente dell’Università Politecnica delle Marche della studentessa Amel Bel Hadj Ali dal titolo “Long-term effects of chronic exposure to e-cigarette aerosol on the cardiovascular and pulmonary system in mice”.

8. Attività di divulgazione e di terza missione

Nell’anno 2025 ho partecipato ad attività divulgative e di terza missione che hanno previsto preparazione di materiale, organizzazione stand e attività di divulgazione scientifica per i seguenti eventi:

- SHARPER, LA NOTTE EUROPEA DEI RICERCATORI” svolta ad Ancona, settembre 2025



- Partecipazione a progetti nell'ambito del Piano Nazionale Lauree Scientifiche (PLS) del Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università Politecnica delle Marche.

-Partecipazione a progetti nell'ambito per l'orientamento degli studenti delle scuole secondarie superiori Percorsi per le competenze trasversali e per l'orientamento, PCTO / alternanza scuola lavoro, ASL.

9. Responsabilità per il Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente (Università Politecnica delle Marche)

-Membro della Commissione per l'assegnazione di Assegni di Ricerca SSD BIOS-10/A

-Membro di Commissioni per l'assegnazione di Incarichi Individuali con Contratto di Lavoro Autonomo.