



Ferrara 18/10/2020

Oggetto. *Bando erogazioni liberali Fondazione Fornasini 2018*

Relazione delle attività svolte

In riferimento al contributo della Fondazione Fornasini assegnato con delibera del 1 Marzo 2019 al Dipartimento di Morfologia, Chirurgia e Medicina Sperimentale dell'Università degli Studi di Ferrara ed accettato dallo stesso Dipartimento in data 29 marzo 2019, si fa presente che tale contributo è stato utilizzato per una borsa per attività di ricerca post-laurea per un anno, il cofinanziamento di una borsa di Dottorato (entrambe a decorrere dal 1 novembre 2019) e contributo spese accessorie per reagenti inerenti il progetto di ricerca dal titolo: *"Ruolo prognostico di mediatori circolanti e genetici implicati nello stress ossidativo e infiammazione nella malattia di Alzheimer: differenze di genere"* di cui è responsabile scientifico la Prof. Veronica Tisato.

Lo studio mira ad identificare marcatori biologici precoci e predisposizioni ereditarie sesso/genere-specifiche responsabili dell'insorgenza della malattia cognitiva e della progressione verso la malattia di Alzheimer (AD). Si tratta di un progetto che nel suo complesso si caratterizza per natura traslazionale e che si colloca nell'ambito della ricerca per la salute condotta mediante l'utilizzo di tecnologie innovative, in linea con gli scopi sociali e lo statuto della Fondazione Fornasini.

Gli studi e le attività di ricerca svolte nel presente anno di finanziamento hanno rappresentato la prosecuzione di ricerche in corso da diversi anni dal nostro gruppo di ricerca presso il Dipartimento di Morfologia, Chirurgia e Medicina Sperimentale dell'Università degli Studi di Ferrara volte a definire e identificare *driver* genetici e biomarcatori circolanti sesso-specifici che possano trasformare l'approccio diagnostico, terapeutico e prognostico a questa malattia e ad altre condizioni patologiche, alcune delle quali che possono essere anche prodromiche allo sviluppo e progressione di deficit cognitivi e demenza quali le malattie cardiovascolari (CVD).

Il nostro gruppo aveva precedentemente pubblicato un lavoro su differenti tipologie di demenza identificando interessanti interazioni tra marcatori genetici e fattori solubili utili per l'identificazione precoce di soggetti a rischio di declino cognitivo (*Gene-gene interactions among coding genes of iron-homeostasis proteins and APOE-alleles in cognitive impairment diseases, PlosOne*). Tali ricerche, condotte mediante l'impiego di protocolli formulati nel rispetto di rigorosi principi bioetici, approvati dal Comitato Etico dell'Università e Azienda Ospedaliero-Universitaria di Ferrara e/o dal Ministero della Salute, sono state estese valutando una associazione sesso-specifica tra il ferro, APOE (il principale trasportatore delle lipoproteine), e polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) comuni dei geni del metabolismo del folato in 294 pazienti con AD e 1086 controlli normali. Contestualmente, è iniziata la valutazione di marcatori circolanti relativi all'asse lipidico. Nel complesso, i nostri risultati hanno evidenziato come i geni e le isoforme del folato possano



diversamente regolare la progressione ad AD conclamata nei due sessi. Stiamo al momento effettuando la valutazione dello stato di metilazione del DNA dei soggetti per valutare effetti epigenetici nello sviluppo della demenza oltre ad espandere il numero dei pazienti arruolati nella ricerca.

La sospensione delle attività di laboratorio durante il periodo di lockdown dovuto all'emergenza pandemica del SARS-CoV-2 ha inevitabilmente creato un ritardo nella finalizzazione della pubblicazione dello studio per la chiusura dei laboratori e per la difficoltà di reperire i campioni biologici dalle Unità Operative Cliniche coinvolte che erano in piena emergenza COVID-19. Tuttavia, i dati generati ad oggi sono stati sottomessi al Congresso Nazionale della SIGU- Società Italiana di Genetica Umana in cui è stato evidenziato il sostegno della Fondazione nella presentazione selezionata come poster (*Allegato 1*). Nel frattempo è ripresa l'attività di ricerca e la finalizzazione degli esperimenti per la stesura finale del manoscritto, sarà nostra cura inviare copia della pubblicazione alla Fondazione non appena questa sarà accettata.

Nonostante non fosse possibile continuare con la parte sperimentale, durante il periodo di lockdown sono stati approfondite tematiche relative al ruolo di *driver* genetici e biomarcatori circolanti sesso-specifici in patologie che possono avere un ruolo favorente il deficit cognitivo (i.e. CVD), altre condizioni neurologiche (i.e. autismo) e patologie complesse ed emergenti quali la COVID-19. Tali studi si sono concretizzate in tre pubblicazioni scientifiche, delle quali due già pubblicate, nelle quali il sostegno della Fondazione è stato evidenziato nella sezione "*Acknowledgments*" e una in fase di preparazione/sottomissione. Si riportano di seguito gli estremi di tali pubblicazioni con una sintetica descrizione dei risultati (per una completa visione degli stessi si allegano alla presente copia dei manoscritti in esteso):

1- Sex/Gender-Specific Imbalance in CVD: Could Physical Activity Help to Improve Clinical Outcome Targeting CVD Molecular Mechanisms in Women? Mauro Vaccarezza, Veronica Papa, Daniela Milani, Arianna Gonelli, Paola Secchiero, Giorgio Zauli, Donato Gemmati, Veronica Tisato

Int J Mol Sci. 2020 Feb 21;21(4):1477. doi: 10.3390/ijms21041477 (*Allegato 2*)

Questo studio ha affrontato differenze legate al sesso / genere nelle malattie cardiovascolari (CVD) che rappresentano la principale causa di morte in tutto il mondo sia negli uomini che nelle donne, rappresentando almeno un terzo di tutti i decessi nelle donne e la metà dei decessi nelle donne oltre i 50 anni nei paesi in via di sviluppo, oltre a rappresentare un fattore di rischio per lo sviluppo di numerose altre patologie quali deficit cognitivi, soprattutto in un momento critico di isolamento fisico e psicologico derivato dal lockdown dovuto al COVID-19. Recenti dati attribuiscono in Italia un +20% di infarti e malattie CVD non trattate a causa del conteso derivato dal COVID-19 e contestuale esacerbazione della situazione psicologica dei pazienti anziani con o senza demenza.



Recentemente sono state scoperte importanti differenze legate al sesso nella prevalenza, presentazione, gestione ed esiti di diverse CVD, dimostrando caratteristiche fisiopatologiche specifiche per sesso / genere nella presentazione e prognosi nei maschi e nelle femmine. Una grande quantità di prove ha evidenziato il ruolo degli ormoni sessuali nella protezione delle donne dalle malattie cardiovascolari, fornendo un vantaggio rispetto agli uomini che si perde quando le donne raggiungono la fase della menopausa. L'ormone-dipendenza del rischio CVD influisce sull'epidemiologia complessiva, in particolare alla luce della tendenza crescente all'invecchiamento della popolazione. I benefici dell'attività fisica sono da tempo riconosciuti come un potente approccio preventivo sia per la prevenzione delle CVD che per il controllo della morbilità correlata all'invecchiamento, ivi incluso lo stato mentale e le performance cognitive. Tuttavia, i meccanismi alla base di questi effetti positivi, anche dal punto di vista di differenze di sesso/genere, devono ancora essere completamente chiariti così come l'effetto della CVD e dei suoi fattori di rischio sull'AD al fine di comprendere meglio gli effetti della CVD subclinica e clinica sul cervello.

In questo lavoro sono stati riassunti e criticamente commentate le evidenze che collegano le differenze di sesso/genere nella CVD, compresi i mediatori molecolari sesso/genere specifici, per comprendere e valutare se l'attività fisica effettuata e prescritta in modo "personalizzato" possa essere utilizzata come strumento efficace per prevenire le malattie cardiovascolari e migliorare l'outcome clinico.

2- COVID-19 and Individual Genetic Susceptibility/Receptivity: Role of ACE1/ACE2 Genes, Immunity, Inflammation and Coagulation. Might the Double X-chromosome in Females Be Protective against SARS-CoV-2 Compared to the Single X-Chromosome in Males? Donato Gemmati, Barbara Bramanti, Maria Luisa Serino, Paola Secchiero, Giorgio Zauli, Veronica Tisato

Int J Mol Sci. 2020 May 14;21(10):3474. doi: 10.3390/ijms21103474 (Allegato 3)

Questo studio ha affrontato differenze legate al sesso/genere nella predisposizione all'infezione da nuovo coronavirus (SARS-CoV-2) e nella prognosi (a breve e lungo termine) della COVID-19 tenendo presente che i più alti tassi di mortalità e di severità clinica della malattia da SARS-CoV-2 (COVID-19) colpisce principalmente anziani di sesso maschile.

Sembra infatti che i maschi siano più suscettibili alla SARS-CoV-2 rispetto alle femmine, con il 65% di probabilità in più di morire per l'infezione rispetto alle femmine. I dati dell'Organizzazione mondiale della sanità (OMS) e gli scienziati cinesi mostrano che di tutti i casi circa l'1,7% delle donne che contraggono il virus morirà rispetto al 2,8% degli uomini, e i dati degli ospedali di Hong Kong affermano che il 32% dei maschi e il 15% delle pazienti femmine COVID-19 necessitava di terapia intensiva o è deceduta. D'altra parte, la ricaduta a lungo termine del coronavirus potrebbe essere peggiore per le donne che per gli uomini a causa di ragioni sociali e psicosociali. Indipendentemente dai dati basati sul sesso o di genere ottenuti dall'OMS e da quelli raccolti da riviste scientifiche a volte controverse, alcuni punti centrali dovrebbero essere considerati. In



primo luogo, SARS-CoV-2 ha una forte interazione con il recettore ACE2 umano, che svolge un ruolo essenziale nell'ingresso cellulare; è interessante notare che il gene ACE2 si trova sul cromosoma X, consentendo così alle femmine di essere potenzialmente eterozigoti e diversamente assortite rispetto agli uomini che sono decisamente emizigoti. In secondo luogo, il più alto tasso di espressione di ACE2 nelle femmine, sebbene controverso, potrebbe attribuire loro la prognosi peggiore, in contrasto con i dati epidemiologici mondiali. Infine, diversi geni coinvolti nell'infiammazione si trovano sul cromosoma X, che contiene anche un numero elevato di geni correlati al sistema immunitario responsabili delle risposte immunitarie innate e adattive alle infezioni. In questo *Hypothesis paper* abbiamo ipotizzato il ruolo del cromosoma X e della via metabolica RAS come fattori responsabili in entrambi i sessi di ridurre in modo sesso-specifico l'infiammazione, la trombosi e la morte.

3- Genes of One-Carbon Metabolism Pathway in Autism Spectrum Disorder: Insights in a Sex-Related Perspective. Juliana A. Silva; Veronica Tisato; Giovanna Longo; Tracy Lupiano; Singh AV; Donato Gemmati (*Manoscritto in preparazione, Allegato 4*).

Questo studio ha affrontato differenze legate al sesso nell'ambito dei disturbi dello spettro autistico (ASD) e in altri disordini neurologici e cognitivi tra cui Alzheimer's disease.

I disturbi dello spettro autistico (ASD) sono un insieme complesso di malattie neuropsichiatriche umane la cui eziologia è ancora sconosciuta, anche se sono state evidenziate predisposizioni ben definite basate sul genoma (esistono circa 100 geni candidati collegati all'ASD rilevabili in circa il 10-25% dei pazienti autistici) oltre al coinvolgimento di altri meccanismi, in primis la neuro-infiammazione. I polimorfismi dei geni del metabolismo del folato sono particolarmente rilevanti e sono stati associati ad altre malattie neurologiche, psichiatriche e neurodegenerative inclusi deficit cognitivi e Alzheimer's disease. Pochissimi studi su questi geni/polimorfismi sono stati però affrontati da una prospettiva sesso-specifica, sebbene l'ASD mostri un grande divario nei due sessi in termini di insorgenza e progressione della malattia.

In questo lavoro sono stati riassunti e criticamente commentati i meccanismi molecolari relativi ai processi di ri-metilazione e trans-sulfurazione dell'omocisteina nell'ASD e in altri disordini neurologici e cognitivi tra cui AD. Il focus e l'analisi di specifici geni quali DHFR, MTHFR e CBS affrontati per la prima volta in un'ottica di differenze di sesso può offrire una nuova prospettiva per la comprensione dello sviluppo, progressione e cura dell'ASD e dei disordini neurologici in cui tali geni sono coinvolti.

Responsabile delle ricerche

Prof.ssa Veronica Tisato

Il Direttore del Dipartimento

Prof.ssa Paola Secchiero