

Bando FIN-RER
Sinossi dello Studio

Titolo dello studio: _ Valutazione immunohistochimica dell'espressione di TMPRSS2, ERG, recettore androgeno e ACE2 in pazienti con infezione da SARS CoV-2 ed eventuale associazione con il sesso maschile

Responsabile scientifico: Prof. Michelangelo Fiorentino

AZIENDA/IRCCS AUSL BOLOGNA

Studio multicentrico **Si** **No**

Elenco dei centri partecipanti

Denominazione U. O	AZIENDA/IRCCS
DIAP – Dipartimento interaziendale di Anatomia Patologica (<i>UOC Anatomia Patologica Ospedale Maggiore Bologna e UOC Anatomia Patologica Sant'Orsola Malpighi, IRCCS</i>)	AUSL BOLOGNA

Background e Razionale (massimo 3000 caratteri): Descrivere brevemente lo stato dell'arte sull'argomento ed il razionale che giustifica l'esecuzione dello studio

SARS CoV-2 è un virus che è stato identificato per la prima volta al termine del 2019 nella provincia cinese di Wuhan. È stato classificato della stessa famiglia di SARS e MERS, in quanto a seguito del sequenziamento del suo genoma è stata individuata un'omologia ad essi rispettivamente del 78% e 52%. Questo può essere causa di sindrome respiratoria acuta grave (ARDS), ma può manifestarsi anche con sintomi più lievi tipici influenzali come tosse, febbre, diarrea, tosse secca, ostruzione nasale e alcuni atipici e caratteristici di questa patologia come perdita di gusto e olfatto. L'11 marzo l'OMS dichiarava la pandemia. Nelle settimane successive tutti i paesi mondiali iniziarono a registrare un aumento dei casi, con un calo nel periodo estivo e una progressiva ripresa, se pur evidenziando dei picchi epidemici, che sta progredendo tutt'ora.

Il tropismo del virus per l'apparato respiratorio è dovuto all'interazione con i recettori ACE2 normalmente presenti nel parenchima polmonare. Il virus interagisce con i recettori ACE2 attraverso la proteina S (spike) virale, penetrando nelle cellule epiteliali alveolari. ACE2 è un enzima presente sulle membrane cellulari delle cellule e dell'epitelio alveolare, cardiache, renali e intestinali ed è deputato alla conversione dell'angiotensina. Ha un ruolo fondamentale nel meccanismo di ingresso del virus nell'uomo, assieme ad un'altra proteina: TMPRSS2. Questa è una proteina endoteliale presente sulla superficie delle cellule (polmonari ma anche prostatiche) che facilita e attiva l'ingresso del virus nelle cellule umane. La sua presenza è regolata dagli ormoni androgeni e proprio una mutazione a suo carico sembrerebbe essere responsabile del carcinoma della prostata. Sebbene questo virus abbia una letalità bassa nella popolazione generale SARS CoV-2 ha un'alta diffusione e la fascia d'età della popolazione più anziana è maggiormente vulnerabile. Per questo motivo ha causato grandi scompensi a livello mondiale, spingendo i paesi ad interi blocchi dell'economia, trasporto e turismo per evitare un'ulteriore propagazione dell'infezione, in particolar modo per proteggere le persone immunodepresse, anziane e affette da cardiopatie che sono esposte a rischio maggiore. Per di più, è fondamentale sottolineare che una percentuale di pazienti affetti da SARS-CoV-2 è costretta al ricovero in terapia intensiva: nel caso in cui il virus si diffonda ad oltranza, ciò sarebbe un grave problema per la sanità pubblica che non riuscirebbe a sostenere un numero di ricoveri in terapia intensiva elevato per un tempo prolungato.

Per questo motivo risulta fondamentale l'utilizzo del vaccino che riduca il numero contagi o di terapie efficaci che possano ridurre la mortalità ad esso associata.

Obiettivi dello studio (massimo 3000 caratteri): Endpoint primario; Endpoint secondari; Obiettivi esplorativi

Lo scopo del nostro progetto è di poter individuare una correlazione tra la presenza di recettori ACE2, la proteina TMPRSS2 e ERG, il recettore dell'androgeno (AR) e l'eventuale penetrazione del virus nel parenchima polmonare, valutando l'espressione dei recettori su campioni tissutali di soggetti risultati positivi all'infezione virale sia asintomatici e sintomatici e in un gruppo di controllo, sottoposto a resezione del parenchima polmonare, precedentemente all'identificazione del virus (campioni della prima metà del 2018).

Che cosa lo studio contribuisce ad aggiungere alle attuali conoscenze? Quale rilevanza clinica avrà il risultato atteso? Quale potrebbe essere il beneficio diretto e quale quello indiretto per i pazienti arruolati nello studio?

Il virus mostra delle proiezioni su tutta la sua lunghezza, tali proiezioni sono formate dalla proteina S: spike e questa glicoproteina che determina la specificità del virus per le cellule epiteliali del tratto respiratorio. È infatti in grado di legare il recettore ACE2 (angiotensine converting enzyme 2), espresso dalle cellule dei capillari polmonari.

È proprio il recettore ACE2 di interesse del nostro studio, assieme alla proteina TMPRSS2. Essa è una proteina endoteliale sulla superficie delle cellule che è coinvolta nell'ingresso e nella diffusione di SARS CoV-2. Un potente inibitore di TMPRSS2, il Camostat, è risultato efficace nella prevenzione dell'entrata del virus nelle cellule umane quindi è utilizzato come terapia antivirale.

La funzione biologica esatta di TMPRSS2 è in gran parte sconosciuta, ma si sa per certo che è fondamentale per la funzione normale della prostata, è infatti espressa nelle sue cellule epiteliali. È noto anche che potrebbe essere proprio una modificazione a carico di TMPRSS2 a determinare il cancro prostatico. È stato scoperto che le traslocazioni cromosomiche presenti nel carcinoma della prostata producono la fusione del promotore, TMPRSS2, regolato dagli androgeni, con la regione codificante di alcuni fattori di trascrizione della famiglia ETS. Da ciò ne deriva l'over-espressione, androgeno dipendente, dei fattori di trascrizione ETS nel tessuto prostatico. In circa il 70% dei casi il gene coinvolto è ERG.

Sia ACE2 che TMPRSS2 sono espressi sull' epitelio nasale bronchiale e gastrointestinale (è proprio per questo che sono frequenti sintomi intestinali); TMPRSS2 attiva o innesca il dominio del virus che penetrerà nelle cellule umane attraverso l'associazione ad ACE2.

TMPRSS2 è tra i geni più frequentemente mutati nel carcinoma della prostata, allo stesso tempo è risultato essere un fattore decisivo nell'ingresso cellulare da parte di SARSCoV-2 nei diversi distretti. La modulazione della sua espressione da parte degli ormoni androgeni potrebbe essere la causa della predominanza maschile nelle infezioni da SARS CoV-2. È per questo motivo che si è cominciato a fare ipotesi su una possibile correlazione tra una maggiore letalità maschile del SARS Cov-2 e il ruolo della regolazione dell'ormone androgeno su TMPRSS2 nell'ingresso del Covid-19 nelle cellule umane.

In questo progetto l'intento è quello di cercare un'associazione tra la morte a causa dell'infezione SARS CoV-2 e la distribuzione delle proteine associate all'ingresso del virus nelle cellule alveolari e nel parenchima polmonare: TMPRSS2 e ACE2; così come le proteine ERG e i recettori androgeni, in tessuti polmonari normali e di pazienti affetti da SARS CoV-2 sia deceduti che guariti.

Disegno dello studio: Indicare la tipologia di studio [Osservazionale (retrospettivo), interventistico (randomizzato, in cieco), studio su campioni biologici]

POPOLAZIONE IN STUDIO NUMERO TOTALE SOGGETTI COINVOLTI: 50 pazienti

IN ITALIA: Bologna

NEL CENTRO: DIAP – Dipartimento interaziendale di Anatomia Patologica (UOC Anatomia Patologica Ospedale Maggiore Bologna e UOC Anatomia Patologica Sant'Orsola Malpighi, IRCSS)

CARATTERISTICHE: VOLONTARI SANI: NO x

PAZIENTI OSPEDALIZZATI: SÌ x

PAZIENTI AMBULATORIALI: SÌ x

SOGGETTI INCAPACI DI INTENDERE E DI VOLERE: NO x

MINORI SÌ NO x

SESSO M x F x

ETÀ >= 18 anni

Popolazione dello studio: Condizione/malattia; Numero di pazienti da arruolare; Criteri di inclusione; Criteri di esclusione; Se non applicabile riportare NA.

CRITERI DI INCLUSIONE

Per quanto riguarda I gruppi 1 e 2 è possibile recuperare i campioni tissutali di parenchima polmonare negli archivi di Anatomia Patologica dell'Ospedale Maggiore e dell'Ospedale S.Orsola di Bologna a seguito della comunicazione da parte dei clinici e dei chirurghi di sospetta o accertata infezione da SARS-Cov2 e previa verifica dell'effettiva infezione al momento del prelievo parenchimale.

Per il gruppo 3 di controllo i campioni di parenchima saranno estrapolati dai sistemi informatici di archiviazione utilizzando la parola chiave "parenchima polmonare" nel primo semestre del 2018 e reperiti presso gli archivi dell'Anatomia Patologica dell'Ospedale Maggiore.

Pazienti sottoposti ad intervento chirurgico effettuato a livello polmonare o campioni autoptici di cui sia disponibile un prelievo polmonare di cui è presente materiale biologico incluso in paraffina e un adeguato follow-up clinico.

CRITERI DI ESCLUSIONE

- 1) Pazienti di cui non è presente materiale incluso in paraffina o non idoneo qualitativamente e quantitativamente alle indagini immunoistochimiche necessarie.
- 2) Pazienti di cui non possediamo notizie cliniche e un adeguato follow-up.

DISEGNO DELLO STUDIO E SUA DESCRIZIONE

- 1) Eseguiremo un controllo su campioni tissutali polmonari di 22 pazienti (M/F) deceduti nella provincia di Bologna (Ospedale Maggiore, Ospedale Sant'Orsola e Ospedale Bellaria) per sindrome respiratoria acuta a causa di SARS-CoV-2 durante la prima e la seconda ondata di diffusione del virus nel 2020 (3/2020 - 4/2021). Valuteremo l'espressione di ACE2, AR, TMPRSS2 e ERG, l'eventuale di fusione di TMPRSS2: ERG con immunoistochimica; la localizzazione di SARS-Cov-2 con sonda a ibridazione.
- 2) Il secondo gruppo di interesse comprende campioni di pazienti asintomatici risultati positivi all'infezione SARS Cov-2 (tra 3/2020 e 4/2021) tramite analisi effettuata con tampone faringeo, di cui saranno valutate tramite immunoistochimica l'espressione di ACE2, AR, TMPRSS2, ERG e l'eventuale fusione di TMPRSS2: ERG; con una sonda a ibridazione in situ la localizzazione di SARS-Cov-2. Il parenchima polmonare oggetto di studio è stato ottenuto in quanto I pazienti erano stati sottoposti a biopsia o intervento chirurgico dal 1° marzo 2020 per patologie non correlate al virus.
- 3) Saranno analizzati 10 campioni appartenenti a pazienti ricoverati per patologie polmonari differenti da quelle provocate da SARS CoV-2, raccolti nel 2018 (prima che l'infezione da SARS- CoV-2 nel mondo fosse accertata). Tramite immunoistochimica si valuterà la presenza di TMPRSS2, ACE2, AR, ERG e

l'eventuale fusione di TMPRSS2: ERG, con una sonda a ibridazione in situ la localizzazione di SARS-Cov-2. I 10 campioni polmonari per il gruppo 3 saranno selezionati anonimamente dagli archivi digitali del dipartimento di Anatomia Patologica, considerando pazienti sottoposti a biopsia polmonare/ intervento chirurgico per qualsiasi motivo all'ospedale Maggiore di Bologna nel primo semestre del 2018. Tali pazienti saranno selezionati solo se presente un 0 o più blocchi inclusi in paraffina di parenchima polmonare non patologico; i campioni tissutali di tali pazienti saranno utilizzati come controllo

La localizzazione cellulare e l'intensità di colorazione (0, 1+, 2+, 3+) per le proteine AR, TMPRSS2 e ACE2 saranno valutate su sezioni di tessuto con l'ausilio di immunohistochimica.

Se studio Interventistico specificare l'intervento; se non applicabile riportare NA.

NA

Tempistica dello studio: Durata dello studio per paziente; Durata dell'arruolamento; Durata dello studio in toto; se non applicabile riportare NA.

Data prevista per l'inizio dello studio (arruolamento del primo soggetto): 1/5/2021

Data prevista per la fine dello studio (ultima visita dell'ultimo soggetto): 1/5/2025

Durata dello studio riferita al singolo paziente: 1 anno circa

Per la dichiarazione dei conflitti d'interesse si rinvia al relativo documento presentato e valutato dal Comitato Etico di competenza ai sensi di legge.