



Facoltà di Medicina e Chirurgia Dipartimento di Scienze della Salute

Università degli Studi di Catanzaro
"Magna Graecia"

Prof. Dr Rosario Amato MD PhD
Responsabile Scientifico Laboratorio Immuno-Genetica, sede Campus
Assistant Professor-Ricercatore Genetica Medica
Dirigente Medico UOC di Genetica Medica
Dottore di Ricerca In Oncologia Molecolare e immunologia sperimentale
Specialista in Radioterapia
N° iscrizione albo OMCEO : 6475

All'ILL.mo Magnifico Rettore Università degli Studi Magna Graecia di Catanzaro
Prof Giovanni Cuda-Sede

Oggetto: relazione Assegno di Ricerca in Genetica Medica ssd. MEDS-01/A S.C. 06/MEDS-01
Dr.ssa Carolina Brescia-Titolo: "'Vulnerabilità genetico-metaboliche dei linfociti Th17 e Treg in modelli con patologie neoplastiche e auto-infiammatorie".

La Dr.ssa Carolina Brescia, ha già svolto sotto la mia supervisione un primo anno di assegno di Ricerca nel settore scientifico disciplinare di mia afferenza, portando a conclusione esperimenti di grande valore e ottenendo risultati ampiamente documentati attraverso pubblicazioni scientifiche su riviste internazionali indexate. Nel dettaglio, la Dr.ssa Brescia ha coordinato le attività tra la raccolta dei campioni clinici e il loro processamento secondo quanto previsto dal protocollo di comitato etico autorizzativo. Ha proceduto a delicati esperimenti di messa in coltura e di propagazione di colture primarie linfocitarie, Th17 e Treg derivate da controlli sani e pazienti. Ha definito il profilo trascrittomico di queste cellule contribuendo a scoprire la capacità indotta dalla rimodulazione del metabolismo purinico di indurre trans-differenziazione linfocitaria in senso Th17. Ha proceduto ad analisi biochimiche per definire il meccanismo esatto di questo fenotipo, allestendo saggi di lattazione e di quantizzazione del pool guanosinico intra-cellulare. In tal senso i protocolli messi a punto dalla Dr.ssa Brescia sui modelli linfocitari primari sono i primi nel loro genere e a breve saranno oggetto di pubblicazione su riviste metodologiche dedicate alla messa a punto di nuovi protocolli in biomedicina. Ha poi mediante analisi proteomiche definito il signalling purinergico e scoperto come lo stesso sia in grado di produrre una modulazione del metabolismo del lattato. Attraverso analisi di FACS ha poi analizzato gli immuno-fenotipi derivati, caratterizzando per la prima volta come la rimodulazione del metabolismo purinico, sia mediato da meccanismi esogeni (micro-ambientali) che dipendenti da rimodulazione genetica di geni coinvolti in tale metabolismo, segnalando attraverso il riassetto lattacido, possa mediare profondi effetti sulla cromatina linfocitaria, ancora in via di definizione. Avendo maturato nella sua permanenza all'estero competenze uniche nella analisi di sea-horse (tecnica essenziale per lo studio del metabolismo energetico cellulare) ha contribuito a definire il profilo energetico e di respirazione dei linfociti T CD4+ in corso di trans-differenziazione Th17. Quanto sopra esposto è parte di una pubblicazione in via di sottomissione che vede la Dr.ssa Brescia come prima autrice.

Durante questo secondo assegno di ricerca e sotto la mia supervisione la Dr.ssa Brescia si dedicherà ad approfondire l'orchestrazione dell'immunità innata ad opera dei linfociti Th17 e Treg. Questa riveste un ruolo sempre più decisivo nella comprensione dei meccanismi che correlano la risposta immunitaria alla patogenesi di malattie dai tratti complessi, neoplastiche e infiammatorie. Nuovi elementi indicano in punti di controllo metabolici alla base della plasticità Th17/Treg, le tappe critiche dei processi differenziativi che sostengono le risposte infiammatorie e soppressorie. Questi

rimodellamenti metabolici influenzano direttamente l'assetto genomico del linfocita' T. Scopo del progetto e' identificare e studiare questi check-point metabolici e capire come essi e in che tempistiche e sotto quali stimoli determino cambiamenti dell'espressione genica. Valutare questi assetti genici e i meccanismi che li controllano (lactilazione e acetilazione lattato-dipendente) e valutare assetti aploipici in grado di predisporre o bloccare tali adattamenti in quadri patologici complessi.

Nel nuovo anno di rinnovo il piano sperimentale di ricerca verterà sullo studio funzionale degli effetti del GDP e della Modulazione genetica di RANBP1 sul riassetto genetico e metabolico della cellula CD4+. I campioni di studio saranno reclutati nell'ambito di due tronconi progettuali: quello oncologico, derivato dallo studio clinico-osservazionale, già avviato con la UOC di oncoematologia pediatrica dalla Az.Osp-Universitaria Dulbecco, diretta dalla Dr.ssa Galati, per il quale esiste uno studio approvato dal comitato etico regionale e quello delle malattie infiammatorie nell'ambito della ricerca clinica Immuno-genetica che il proponente coordina all'interno della UOC di Genetica Medica diretta dal Prof Nicola Perrotti. I buffy-coats derivati saranno trattati in modo tale da derivarne CD4+ e mediante opportuni protocolli di isolamento e differenziamento linfociti Th17+ e Treg. I campioni trattati e non con 300mM di GDP in time course da 24h a 5 giorni e sottoposti ad infezioni lentivirali atte a modulare i livelli genici di RANBP1, saranno sottoposti ad analisi di RNAseq e RAMAN microscopy. Saranno eseguiti saggi funzionali di lattato e di guanosine assay. Gli effetti fenotipici saranno validati tramite analisi di FACS al fine di comprendere i livelli di differenziamento funzionale e di stabilire il rating di memoria immunologica. Sui punti di vulnerabilità genetico-metabolici si procederà a testare immuno-modulatori (small molecules) già presenti nel nostro laboratorio, come conseguenza di una collaborazione con il laboratorio di sintesi del Dipartimento Bio-farmacologico dell'Università di Genova, e selezionati sui check-point metabolici RANBP1 e SGK1, che si sono dimostrati in grado di regolare il fenotipo infiammatorio e soppressorio. Il signalling purinico sarà soggetto poi di studio dedicato attraverso analisi genetiche sulla capacità del metabolismo purinico di spingere la produzione di lattato e di alterare in tal modo l'epigenoma linfocitario. Analisi mirate di epigenoma saranno eseguite mediante histone chip assay e relativi sequenziamenti NGS in modo da individuare nuove sequenze target.

In aggiunta a ciò e in ottemperanza al regolamento si precisa che la Dr.ssa Brescia nel corso del primo anno di attività di ricerca da me coordinata risulta autrice o co-autrice dei seguenti lavori scientifici editi su riviste internazionali ed indexati:

1) Gigliotti F, Brescia C et Al. Cytogenetic and Molecular Characterization of an Atypical ETP-ALL Case with BCL2 Dependency: Therapeutic Implications for Venetoclax Use. Accepted on Molecular Brief Reports-Springer (IF 2.8)- co-first Author

2) Torchia, N.; Brescia, C.; Chiarella, E.; Audia, S.; Trapasso, F.; Amato, R. Neglected Issues in T Lymphocyte Metabolism: Purine Metabolism and Control of Nuclear Envelope Regulatory Processes. New Insights into Triggering Potential Metabolic Fragilities. Immuno 2024, 4, 521-548. <https://doi.org/10.3390/immuno4040032> (IMPACT FACTOR 2.1)

3) Audia, S.; Brescia, C.; Dattilo, V.; Torchia, N.; Trapasso, F.; Amato, R. The IL-23R and Its Genetic Variants: A Hitherto Unforeseen Bridge Between the Immune System and Cancer Development. Cancers 2025, 17, 55. <https://doi.org/10.3390/cancers17010055> (IMPACT FACTOR 4.5)

- POSTER 1

ID 14876

U.O.C di Genetica Medica, Azienda Ospedaliero-Universitaria “Renato Dulbecco”, Catanzaro

TITOLO “Complesso caso caratterizzato da obesità e disabilità intellettiva con riscontro di variante nel gene”

SETD1B

F.Dinatolo, A. Dattola, S.M.Lavano, V. Rocca, E. Lo Feudo, F. Ruggiu, A. Falduti, B. Zaccaria, A. Giovinazzo, I. Aversa, C. Brescia, D. Pappaianni, L. D'Antona, E. Mancuso, M.A. Chiaravalloti, M. Talarico, M.L. Bellisario, E. Peroni, R. Procopio, T. Mancuso, A.Bilotta, F. Fabiani, P. Malatesta, R. Amato, F. Trapasso, F.Baudi, N.Perrotti, R.Iuliano, E. Colao

- POSTER 2

ID. 14918

U.O.C di Genetica Medica, Azienda Ospedaliero-Universitaria “Renato Dulbecco”, Catanzaro

TITOLO “Pachionichia congenita: dalla visita clinica alla diagnosi”

F. Dinatolo, A. Dattola, S.M. Lavano, V. Rocca, E. Lo Feudo, F. Ruggiu, A. Falduti, B. Zaccaria, A. Giovinazzo, I. Aversa, C. Brescia, D. Pappaianni, L. D'Antona, E. Mancuso, M.A. Chiaravalloti, M. Talarico, M.L. Bellisario, E. Peroni, R. Procopio, T. Mancuso, A.Bilotta, F. Fabiani, P. Malatesta, R. Amato, F. Trapasso, F. Baudi, N. Perrotti, R.Iuliano, E. Colao.

- POSTER 3

ID. 14877

U.O.C di Genetica Medica, Azienda Ospedaliero-Universitaria “Renato Dulbecco”, Catanzaro

TITOLO “Multiple-gene panel testing in a cohort of patients with hereditary breast cancer”

V. Rocca, E. Lo Feudo, F. Dinatolo, S.M. Lavano, F. Ruggiu, A. Dattola, A. Falduti, C. Brescia, B. Zaccaria, A. Giovinazzo, I. Aversa, F. Fabiani, L. D'Antona, M. Bellisario, E. Peroni, R. Procopio, A. Bilotta, T. Mancuso, M. Talarico, P. Malatesta, R. Amato, F. Trapasso, F. Baudi, N. Perrotti, E. Colao, R. Iuliano.

- POSTER 4

ID. 14885

U.O.C di Genetica Medica, Azienda Ospedaliero-Universitaria “Renato Dulbecco”, Catanzaro

TITOLO “Valutazione del test a cascata a partire da una coorte di pazienti risultati positivi ad un pannello multigenico per tumori ereditari”.

E.Lo Feudo, A.Bilotta, V.Rocca, F.Dinatolo, A. Falduti, S.M. Lavano, A. Dattola, F. Ruggiu, C. Brescia, B. Zaccaria, A.Giovinazzo, D.Pappaianni, I.Aversa, F.Fabiani, L.D'Antona, M.Bellisario,E.Peroni, R.Procopio, E.Mancuso,T.Mancuso, M.Talarico, P.Malatesta, R.Amato, F.Trapasso, F.Baudi, E.Colao, R.Iuliano.

Si precisa anche che il lavoro della dottoressa Brescia è stato presentato al XV congresso nazionale della SIICA (società italiana di immunologia, Immunologia Clinica e Allergologia) che si terrà a Perugia dal 17 al 20 Giugno ed è stato accettato come **presentazione orale** al Congresso con la Dr.ssa Brescia come autrice presentante (si allega documentazione)- **Titolo: The GDP metabolism triggering RANBP1 dependent modulation form the basis of a new differential genetic-metabolic regulation of the lymphocyte fate: a novel pathway for targeted CD4+ re-editing.**

Catanzaro, 08/09/ 2025

In Fede
Prof Dr Rosario Amato MD PhD

A handwritten signature in dark ink, consisting of a large, stylized 'R' followed by a smaller, more complex flourish that appears to be 'A' or 'Amato'.