

La diversità delle risposte al COVID-19 e al vaccino: le basi molecolari

Gian Piero Pescarmona^{*}, Francesca Silvagno^{**},
Annamaria Vernone^{***}

La comparsa del virus SARS-CoV-2 ha creato uno scenario nuovo nella sanità mondiale. Data la variabilità dei sintomi, e l'incapacità dei sistemi sanitari a comprenderne le ragioni molecolari, si sono seguiti percorsi diversi nelle terapie, con risultati controversi e la diffusione di notizie tra di loro incoerenti, basate più su precedenti esperienze che sull'osservazione critica dei dati nuovi.

Proponiamo invece qui una lettura della *variabilità della risposta individuale all'infezione o vaccinazione* basata sulle caratteristiche metaboliche dei singoli, che sono condizionate sia da fattori genetici che ambientali (dieta, inquinamento, farmaci, stile di vita), in modo da individuare le categorie più fragili. Negli ultimi anni, pur di fronte a una malattia grave solo per alcune categorie di persone, si è cercato di bloccare il virus con un vaccino piuttosto che modificare il metabolismo dei fragili, in modo da aiutarli a superare indenni la malattia. La nostra analisi biochimica rappresenta il punto di partenza per una reale medicina personalizzata: individuare i meccanismi molecolari che determinano le categorie a rischio permette di

^{*} Professore di Biochimica clinica, Università degli Studi di Torino.

^{**} Professoressa associato di Biochimica, Dipartimento di Oncologia, Università degli Studi di Torino.

^{***} Tecnico di ricerca, Dipartimento di Neuroscienze, Università degli Studi di Torino.

intervenire per rinforzare il metabolismo delle persone fragili, in modo da prevenire i sintomi gravi del COVID-19 o gli effetti collaterali della vaccinazione. Un esempio della variabilità individuale è il livello del glutatione, da noi recentemente proposto come protettivo nel caso dell'infezione da SARS-CoV-2 (Silvagno, Vernone, Pescarmona 2020).

Diversi sono stati gli approcci al COVID-19 a seconda dell'osservatore (epidemiologo, medico di base, ricercatore, ISS, Ministero):

- Epidemiologico (Ioannidis 2020; Sun *et al.* 2020).
- Trial clinici randomizzati (Karlsen *et al.* 2020).
- Terapie domiciliari precoci (McCullough *et al.* 2021; Fazio *et al.* 2022), ecc.

Questi approcci ci danno un'idea delle modalità di diffusione del virus e del tipo di sintomatologia sulla popolazione totale suddivisa in categorie: anzianità, sesso, malattie preesistenti (diabete, ipertensione, obesità, ipotiroidismo); i componenti della categoria sono considerati relativamente omogenei e si valuta come reagiscono a trattamenti uguali.

Tutti questi dati ci danno un indirizzo generale sul come affrontare l'infezione, ma per poter lavorare sul singolo occorre basarsi sui meccanismi molecolari (partendo da quelli noti e cercando di scoprire quelli ignoti quando il nostro approccio fallisce), in modo da avere un approccio molto più personalizzato alla cura e alla prevenzione (causalità basata sul meccanismo e non sull'“Evidence-based Medicine” [Clarke *et al.* 2013]).

Tale approccio richiederebbe una pubblicazione dei dati sull'evoluzione della malattia in formato FAIR (“Findable, Accessible, Interoperable, Reusable”), per poterli analizzare in maniera automatica e in maniera indipendente, secondo le regole dell'“Open Science”. Una proposta in tal senso era stata avanzata (Mons *et al.* 2020), ma non ha avuto molto seguito, probabilmente a causa della sua complessità.

In mancanza di un approccio globale, che permetta di avere una descrizione completa del singolo paziente (decor-

so della malattia, terapie, fattori di rischio predisponenti, ecc.), occorre cercare la variabilità della risposta individuale all'infezione o alla vaccinazione indagando le caratteristiche metaboliche e ormonali delle persone statisticamente più a rischio di malattia grave o postumi (Long-COVID).

Categorie a rischio

Fin dall'inizio si sono identificate delle categorie a rischio (China CDC 2020; BBC 2020), sia per la preesistenza di malattie (Fang *et al.* 2020) che per l'uso di determinati farmaci (Pandolfi *et al.* 2021). I fattori di rischio universalmente riconosciuti in tutte le popolazioni sono l'età, il sesso, le malattie cardiovascolari, il diabete, l'ipertensione e le malattie polmonari (come evidenziato in fig. 1). Inoltre, il tasso di obesità è uno dei fattori che può spiegare su scala mondiale la variazione del tasso di morte per COVID-19 (Gardiner *et al.* 2021).

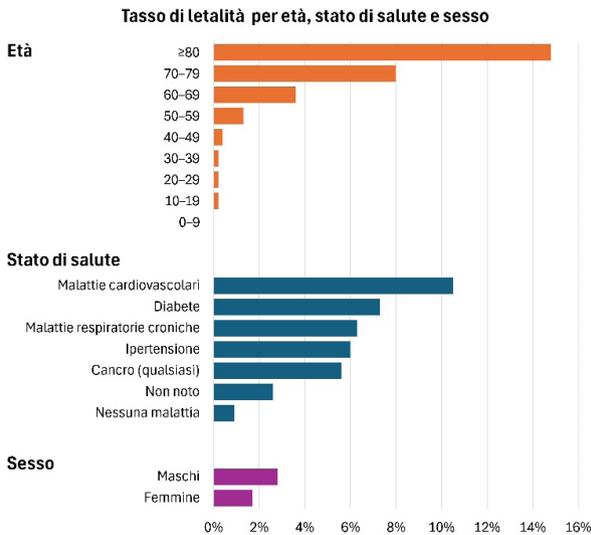


Fig. 1. Il tasso di mortalità per COVID-19 varia con l'età, lo stato di salute e il sesso. Fonte dati: China CDC 2020, tabella 1.

I vari fattori di rischio identificati sulla base dei dati epidemiologici hanno delle caratteristiche metaboliche comuni, che giustificano la condizione di fragilità, caratterizzata da un'eccessiva risposta infiammatoria con malattia di diversa gravità, fino alla morte. In tab. 1 sono elencati i principali parametri metabolici coinvolti nella fragilità e la loro correlazione con il fattore di rischio.

Tab. 1. I fattori di rischio correlati ai parametri metabolici che determinano fragilità

<i>Parametro metabolico Fattore di rischio</i>	<i>DHEA</i>	<i>Cortisolo</i>	<i>GSH</i>	<i>Vit. D</i>	<i>BMR</i>
Età avanzata	basso	alto	basso	basso	basso
Diabete	basso	alto	basso	basso	basso
Ipertensione	basso	alto	basso	basso	?
Obesità	basso	alto	basso	basso	basso
Utilizzo di diuretici	–	alto	–	–	?
Utilizzo di farmaci	–	–	basso	basso	?
Esposizione a inquinamento atmosferico	–	–	basso	basso	?
Utilizzo di paracetamolo	–	–	basso	–	?
Utilizzo di cloroquina	–	–	basso	–	?
Utilizzo di cortisonici	–	alto	–	–	?
Utilizzo di ibuprofene	–	–	–	–	?

DHEA = deidroepiandrosterone, GSH = glutazione, BMR: metabolismo basale.

Questi e altri fattori metabolici sono molecole centrali nel metabolismo; i loro alterati livelli possono pregiudicare funzioni importanti nella difesa dal COVID-19, ad esempio le difese immunitarie, le difese antiossidanti e anti-infiammatorie, la produzione di energia.

I parametri metabolici: le molecole

DHEA (deidroepiandrosterone) e cortisolo

Il DHEA è basso in molte categorie a rischio, mentre il cortisolo risulta elevato; il DHEA è l'ormone del surrene precursore di testosterone ed estrogeni, cala con l'età, ma ci sono variazioni con la vita più o meno sedentaria, lo stress ambientale ecc. (Bjørnerem *et al.* 2004).

Il metabolismo del DHEA è stato descritto in Binello, Gordon (2003, figura 2). Il surrene, stimolato dall'ACTH (*adrenocorticotropic hormone*), produce DHEA, DHEA solfato, oppure progesterone e cortisolo. Di fronte a questo bivio metabolico, la scelta se produrre meno DHEA e più progesterone/cortisolo dipende dall'attività dell'enzima 3-beta-HSD (3-beta-idrossisteroidodeidrogenasi), che è ridotto dall'endocannabinoide anandamide [12] (Chianese *et al.* 2014) e attivato dalla citochina infiammatoria PGE2 (prostaglandin E2) (Rainey *et al.* 1991), ACTH e angiotensina II (Lebreton *et al.* 1994).

Il cortisolo è prodotto in alternativa al DHEA quando il cervello è in stato di stress, non solo per motivi psicologici e socioambientali, ma perché, per mancanza di elementi essenziali per la respirazione cellulare (ossigeno, ferro, coenzima Q10, eme, ecc.), la sua produzione di energia – sotto forma di ATP (adenosina trifosfato) – non è sufficiente per affrontare gli stress della vita quotidiana, e il cortisolo, aumentando la glicemia e la pressione, lo aiuta a produrre più energia. Possiamo dunque concludere che i livelli protettivi di DHEA scendono e sale il cortisolo in situazione di stress (psicologico e metabolico), infiammazione e sbilanciamento ormonale.

Glutazione (GSH)

Anche il GSH è basso nelle categorie a rischio. Il GSH è la molecola che protegge tutti i tessuti dallo stress ossidativo e dall'infiammazione, è prodotto in grandi quantità ed è formato da tre aminoacidi, di cui uno, il glutammato,

largamente disponibile nella dieta e gli altri due, cisteina e glicina, relativamente scarsi. Per la sintesi del GSH occorrono due molecole di ATP e pertanto il suo livello dipende strettamente dall'attività della respirazione mitocondriale, cioè dalla capacità dei nostri tessuti di produrre energia sotto forma di ATP nelle centrali energetiche cellulari chiamate mitocondri.

Vitamina D

Anche i livelli di vitamina D sono bassi nei pazienti fragili. Per la sintesi della forma attiva della vitamina D (1,25 dihydroxyvitamin D, ovvero 1,25 [OH]₂ VIT D), occorre l'eme, la cui sintesi richiede ferro, estrogeni, vitamina B6 e una respirazione mitocondriale attiva, per la produzione di anione superossido necessario per la riduzione del Fe⁺⁺⁺ a Fe⁺⁺ (Brieland, Fantone 1991). Possiamo concludere che, per avere buoni livelli di glutatione e vitamina D protettivi verso il COVID-19 e altre infezioni, è necessaria una buona disponibilità di oligoelementi, vitamine e ormoni che mantengono elevato il metabolismo energetico dei nostri tessuti.

Lo stato di salute o di fragilità, nello specifico la possibilità di essere infettati da SARS-CoV-2 e guarire oppure contrarre il COVID-19 nella forma grave o di Long-COVID, dipende dalla somma di molti fattori, endogeni ed esogeni. La somma delle variabili può dare un risultato immunoprotettivo e anti-infiammatorio, oppure può originare infiammazione, deficit immunitario e malattia cronica, come schematizzato nella fig. 2. Queste variabili sono tutte interdipendenti e non basta modificarne una per risolvere un problema, occorre considerarle sempre tutte insieme.

Analizziamo di seguito i principali fattori endogeni ed esogeni che determinano lo stato di salute o di fragilità.



Fig. 2. La somma di fattori endogeni ed esogeni può favorire l'infiammazione e la malattia cronica.

Fattori endogeni

Il cuore del problema è il metabolismo ossidativo a livello del mitocondrio che produce circa il 95% dell'energia del nostro corpo, anidride carbonica e acqua, e ci scalda.

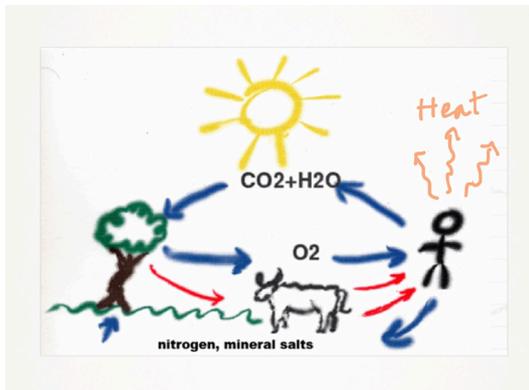


Fig. 3. La fotosintesi, utilizzando l'energia solare, produce O_2 e nutrienti per tutte le specie viventi. L'uomo usa i nutrienti e l' O_2 per produrre energia (ATP), calore, H_2O e CO_2 .

Il mitocondrio è l'organello preposto alla produzione di ATP (36 molecole di ATP per ogni molecola di glucosio). Per una sua corretta funzione sono necessarie alcune vitami-

ne del gruppo B, il coenzima Q10, il citocromo C (Cyt C), che contiene eme la cui sintesi richiede ferro ed estrogeni. Il CoQ10 e molte proteine della catena respiratoria sono invece sotto il controllo della tiroide.

Se il mitocondrio rallenta il suo ritmo, il glucosio e i trigliceridi non verranno più bruciati (con conseguenze quali diabete, sindrome metabolica, aumento di peso). Se si brucia di meno si avrà meno ATP (ne conseguono stanchezza, depressione, dolori), si produrranno meno CO₂ e acqua, meno acido carbonico, e la persona sarà più soggetta alle infezioni perché senza acido i lisosomi non riescono a uccidere e digerire batteri, funghi, virus, cellule tumorali e cellule morte. L'attività fagocitaria dei macrofagi dipende infatti da un mitocondrio attivo e dalla forma attiva della vitamina D (calcitriolo).

Tra i fattori di rischio di Covid grave è stata spesso citata l'inattività fisica mentre l'attività appare come un fattore protettivo (Dwyer *et al.* 2020). Questo perché il mitocondrio che lavora (ecco perché il lavoro aerobio fa bene alla salute) produce più eme, visto che la sintesi di questa molecola è mitocondriale (Yien, Perfetto 2022). L'eme è necessario per il funzionamento di molte proteine come il citocromo C (che fa parte della catena respiratoria mitocondriale, circolo virtuoso), l'aromatasi per la sintesi degli estrogeni, gli enzimi dell'attivazione della vitamina D (Gilardi, Di Nardo 2017). La sua sintesi si trova descritta in (Kelada *et al.* 2001).

Diventa importante valutare per ogni paziente l'efficienza della respirazione mitocondriale, poiché qui si possono sommare i fattori endogeni causa di malattia. Le variabili endogene sono numerose e possono essere valutate con misure molto diverse: si può quantificare la disponibilità di O₂ con la saturazione dell'emoglobina con l'ossigeno (con l'ossimetro), la produzione dell'eme con la bilirubina sierica, la disponibilità di ferro con la ferritina, la funzione della tiroide (che induce la sintesi di gran parte delle molecole coinvolte nella respirazione mitocondriale) con il TSH, il CoQ10 intracellulare con il colesterolo HDL (la cui sintesi nel fegato va di pari passo

con quella del Q10), la capacità dei mitocondri di bruciare gli acidi grassi, dato clinicamente importante (Masana *et al.* 2021) con la misura dei trigliceridi sierici, e si può utilizzare la CPK (creatina fosfochinasi) come indicatore di morte cellulare per mancanza di energia. Il BMR (“Basal Metabolic Rate” / Metabolismo Basale), misura dell’O₂ trasformato in CO₂, può essere valutato con la calorimetria indiretta.

Fattori esogeni

Oltre ai fattori endogeni vanno ricordati i fattori esogeni, che possono mettere a dura prova un metabolismo già difettoso, tra cui spiccano i farmaci e l’inquinamento ambientale.

Farmaci. Sono molti i farmaci che influiscono negativamente sul metabolismo energetico. Per citare un esempio, le statine bloccano la sintesi del colesterolo endogeno e con lui quella del CoQ10 (Banach *et al.* 2015), che è invece attivata dall’ormone tiroideo mediante l’induzione del primo enzima della via del mevalonato (Zanetti *et al.* 2018, figura 1), la HMG-CoA reduttasi (Choi, Choi 2000). Un altro esempio è il diuretico, che fa perdere sodio e questo stimola la produzione di Cortisolo (Prandota 1977).

Inquinamento ambientale. L’inquinamento ambientale è una delle condizioni che può spiegare l’elevata morbilità nelle regioni più industrializzate, pur in presenza di redditi più elevati e strutture sanitarie più efficienti.

Tra gli inquinanti più comuni che in Italia possono aver contribuito a rendere la popolazione fragile per il COVID-19 bisogna ricordare:

- a. I metalli pesanti usati nelle industrie metallurgiche (Herak-Kramberger, Sabolic 2001), tra cui il piombo che blocca la sintesi dell’eme (Piomelli 1982), necessario per la respirazione cellulare e altre reazioni vitali. Tutti i metalli pesanti, inoltre, possono legare i gruppi SH, inattivando i gruppi -SH degli enzimi e diminuendo

do il GSH (Barbier 2005) che, dopo aver legato i metalli pesanti, viene escreto a livello renale.

- b. I POP (Persistent Organic Pollutants), che legano e consumano anch'essi il GSH. Queste sostanze tossiche e non biodegradabili si accumulano negli esseri viventi e sono presenti nei pesticidi, nei prodotti chimici industriali e nei sottoprodotti dei processi industriali (per inciso, l'Emilia-Romagna è il più importante distretto della plastica europea) (Pescarmona 2020).

Gli inquinanti ambientali si possono aggiungere a caratteristiche del territorio che sono dannose per il metabolismo energetico. Ad esempio, Bergamo, epicentro delle morti nel primo COVID, ha alcune peculiarità ambientali. La maschera di Bergamo, Gioppino, ha un gozzo con tre palle. Le valli bergamasche sono la fonte delle acque più oligominerali al mondo: contengono pochissimo iodio (e conseguente poco ormone tiroideo, quindi poco CoQ10), ma anche pochissimo selenio, necessario per l'attività di molti enzimi critici: la tireoperossidasi necessaria per creare lo iodio molecolare che si lega alla tirosina della tireoglobulina, la deiodinasi che trasforma l'ormone tiroideo T4 a T3 nei tessuti periferici, la glutatione perossidasi che porta via i ROS (radicali liberi) che si producono in eccesso nel nostro corpo. L'espressione dei seleno-enzimi è inibita da SARS-CoV-2 (Wang 2021), confermando l'importanza del danno ossidativo per lo sviluppo intracellulare del virus (Silvagno, Vernone, Pescarmona 2020).

La fragilità di fronte al COVID-19: l'importanza del glutatione

Come si sommano queste variabili endogene ed esogene nel condizionare la fragilità del singolo? Tutti i fattori endogeni ed esogeni che aumentano lo stress ossidativo e lo stato di infiammazione espongono il paziente alla tempesta citochinica responsabile dei sintomi gravi del COVID-19.

I meccanismi dell'infiammazione nel COVID-19 sono descritti in Silvagno *et al.* (2020) e sono schematizzati nella fig. 4.

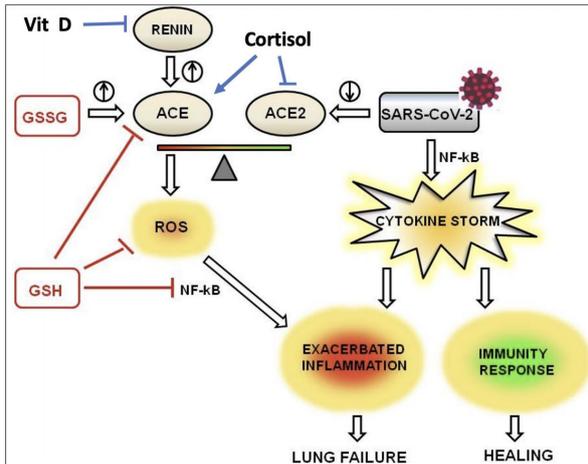


Fig. 4. Meccanismo dell'infiammazione nel COVID (Silvagno, Vernone, Pescarmona 2020).

La vitamina D blocca l'asse pro-infiammatorio renina/angiotensina mediato dall'enzima ACE (*angiotensin-converting enzyme*), mentre il cortisolo favorisce questa segnalazione infiammatoria e blocca la controparte anti-infiammatoria mediata dall'enzima ACE2. ACE2 protegge dall'infiammazione ed è riconosciuto e sequestrato dal virus, quindi durante l'infezione da SARS-CoV-2 lo stato infiammatorio aumenta enormemente e tutti i fattori endogeni ed esogeni che vanno nello stesso senso rendono il COVID-19 pericoloso. Il basso livello intracellulare di GSH rappresenta il fattore critico che sposta l'equilibrio da risposta immunitaria guaritrice a risposta infiammatoria mortale.

Come mostrato nella fig. 4, il calo della vitamina D anti-infiammatoria, l'aumento del cortisolo pro-infiammatorio, e la diminuzione di ACE2 sequestrato dal virus portano a un aumento dell'attività di ACE, ne consegue un aumento

dei ROS, l'attivazione del fattore trascrizionale NF-kB (*nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*) e la produzione massiccia di citokine (TNF- α , IL6, IL1). Se si inattivano i ROS con il GSH (e la glutatione perossidasi, seleno-dipendente) si riduce l'infiammazione.

L'osservazione che il GSH protegge dall'infiammazione esagerata e dalla tempesta citochinica permette di comprendere molta della variabilità della risposta al COVID-19. Infatti, molteplici sono i motivi che riducono il GSH nelle persone, rendendone poco prevedibile il reale livello nel singolo.

I dati della letteratura ci dicono che per riportare il GSH di un settantenne ai livelli dei vent'anni bisognerebbe assumere sei grammi al giorno di NAC (N-acetyl-cysteine) e cinque grammi di glicina (Sekhar *et al.* 2011).

Una domanda interessante è: cosa succede se si riduce il GSH con paracetamolo e cloroquina? È infatti noto che tali farmaci riducono il GSH intracellulare (Bhattacharyya, Chatterjee, Ghosh 1983; Ponsoda 1991). Nonostante queste incongruenze dal punto di vista biologico, tali farmaci sono stati largamente usati nel corso degli ultimi anni, ma con modalità tali da rendere impossibile la valutazione di eventuali danni.

Variabilità della risposta individuale all'infezione e alla vaccinazione

Poiché abbiamo illustrato le basi molecolari che determinano la fragilità o lo stato di salute in risposta all'infezione di SARS-CoV2, in base agli stessi principi possiamo affermare che gli effetti collaterali del vaccino non siano eventi casuali, ma siano strutturali al suo meccanismo d'azione, con manifestazioni cliniche diverse in base alle caratteristiche individuali, esattamente come per la malattia naturale. Abbiamo definito le caratteristiche predisponenti al COVID grave, un approccio analogo può essere utilizzato per individuare le persone per le quali la vaccinazione può rappresentare un rischio.

Molte meta-analisi degli effetti avversi sono state e continuano a venire pubblicate quasi ogni giorno (Pormohammad *et al.* 2021; Kouhpayeh, Ansari 2022; Washrawirul *et al.* 2022). Di fatto tutti i tessuti possono essere interessati. Risalire dai sintomi finali alla causa (approccio *bottom-up*) può essere molto lungo e fuorviante. L'approccio opposto (*top-down*, cosa cambia nel mio organismo con la vaccinazione), può essere più utile.

I principi su cui si basa la risposta individuale a infezione e vaccino sono:

- a. La competizione per le molecole.
- b. La produzione di fibrinogeno scatenata dalle citochine infiammatorie.
- c. Gli effetti dannosi delle citochine infiammatorie.

Quando l'individuo non riesce a rispondere correttamente e si trova sbilanciato su questi aspetti fondamentali, si produce la malattia, da infezione o da vaccino.

a. *La competizione per le molecole*

Il modello che qui viene proposto prevede che le risorse a disposizione dell'organismo siano limitate e che pertanto siano oggetto di competizione tra i vari organi. Semplificando, nello specifico caso della vaccinazione supponiamo che la stimolazione del sistema immunitario porti a un aumentato utilizzo delle risorse (finite) dell'organismo per produrre anticorpi a discapito della produzione di proteine per la respirazione cellulare e dell'attività metabolica delle altre cellule (fegato, reni, muscoli, nervi, ecc.).

La prima risposta all'infezione è la digestione dei nemici col lisosoma del macrofago (Pieters 2001), che rappresenta lo stomaco acido di questa cellula immunitaria. Infatti, di fronte a un organismo estraneo la prima risposta dell'organismo (la più economica ed efficiente) è quella di mangiarlo e digerirlo con i lisosomi acidi. Perché questo avvenga la produzione di CO₂ deve essere elevata (questo dipende dalla buona disponibilità di CoQ10, ormone tiroideo, estro-

geni, ferro per la sintesi dell'eme) e occorre un'elevata concentrazione di vitamina D per attivare la pompa protonica del lisosoma. Tutte o molte di queste condizioni non sono presenti nella popolazione che si ammala in maniera più grave. Quando la produzione di acido non è sufficiente i residui non digeriti delle proteine estranee (antigeni) vengono presentati ai linfociti che, stimolati, aumentano di numero, comunicano tra di loro e alla fine producono gli anticorpi. Ma per produrre anticorpi specifici occorrono nutrienti essenziali come il ferro e gli aminoacidi, la cui disponibilità è limitata all'interno del nostro corpo e quindi oggetto di competizione tra i vari tessuti.

Il ferro serve alla ribonucleotididrossilasi per trasformare il ribosio nel desossiribosio necessario per la sintesi del DNA, indispensabile per l'aumento di numero dei linfociti coinvolti nella sintesi degli anticorpi. Consumando il ferro, i linfociti entrano in competizione con la sintesi dell'eme necessaria in tutti i tessuti per far respirare le cellule, attivare la vitamina D, ecc. La riduzione della transferrina sierica e l'aumento della ferritina sierica possono essere un utile indice di questa situazione.

Lo stesso discorso vale per gli aminoacidi. Ad esempio, il triptofano serve per le proteine della duplicazione del DNA, mentre ha un ruolo marginale nella sintesi delle proteine coinvolte nella respirazione cellulare. Possiamo valutare la competizione per gli aminoacidi misurando le proteine prodotte dal fegato: l'albumina, ad esempio, viene utilizzata dalle cellule per sintetizzare nuove proteine per la respirazione mitocondriale e le funzioni specifiche del tessuto; il fibrinogeno invece serve a fare coaguli, il cui scopo principale non è, come comunemente si crede, impedire il sanguinamento dei vasi recisi, ma impedire la diffusione di virus e batteri nel corpo quando il sistema fagocitario non riesce a ucciderli. I coaguli vengono tagliati in piccoli frammenti (chiamati "d-dimero") che vengono mangiati dai linfociti, digeriti ad aminoacidi e utilizzati per la moltiplicazione dei linfociti e la sintesi degli anticorpi.

È importante ricordare a questo punto come la fibrina e il d-dimero siano anche un nutrimento essenziale per le cellule

cancerose (Dirix *et al.* 2002) le cui richieste nutritive sono identiche a quelle dei linfociti che proliferano. Un interessante approccio sperimentale a questo problema è stato quello di bloccare la crescita dei tumori in vitro fornendo loro solo albumina come nutrimento (Pescarmona *et al.* 2009). Naturalmente non si può togliere il fibrinogeno e lasciare solo l'albumina a un essere vivente e il procedimento non è mai stato applicato in vivo, ma la prova che la disponibilità degli aminoacidi permette di orientare le cellule verso la proliferazione o il differenziamento è un dato fondamentale.

In conclusione, se la competizione sulle molecole non è bilanciata, ad esempio viene aumentata enormemente la produzione di anticorpi, gli altri tessuti ne risentono e diventano deficitari di elementi essenziali alla salute (ferro, vitamina D, aminoacidi, ecc.).

b. *La produzione di fibrinogeno e la sua regolazione nell'infiammazione*

Sempre dai tumori vengono le informazioni più interessanti sui meccanismi molecolari di produzione e diffusione del fibrinogeno (Salgado *et al.* 2002).

La sequenza degli eventi che durante l'infiammazione porta alla formazione di d-dimero dal fibrinogeno è la seguente. La citochina infiammatoria TNF- α (*tumor necrosis factor- α*) stimola la produzione di IL-6 (interleuchina-6), un'altra citochina infiammatoria che induce la sintesi di fibrinogeno nel fegato. In seguito a secrezione e trasporto nel circolo sanguigno, il fibrinogeno penetra nei tessuti quando i vasi diventano permeabili in presenza di VEGF o edema, dando origine a trombi, e poi viene tagliato a formare d-dimero, consumato dalle cellule.

È interessante analizzare le caratteristiche di TNF- α e IL-6 come segnali che inducono la sintesi del fibrinogeno. Il diverso contenuto in aminoacidi (riportato in fig. 5) fornisce informazioni importanti per capire il significato di queste citochine.

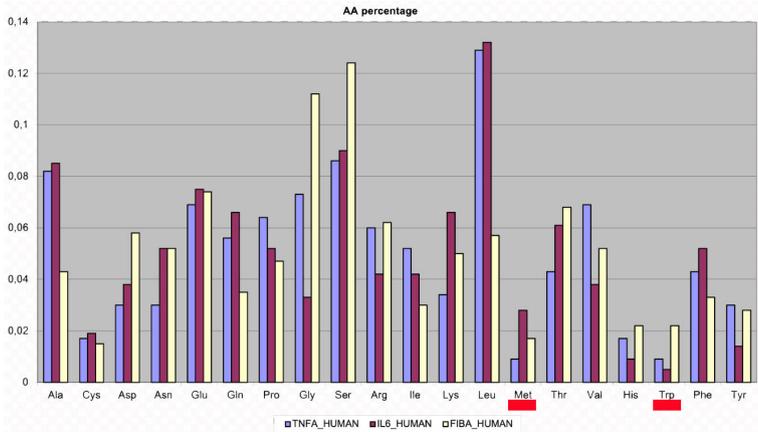


Fig. 5. Percentuale di aminoacidi in TNF- α , IL-6 e fibrinogeno. Sono evidenziati i contenuti di metionina (Met) e triptofano (Trp). TNF- α ha poco Trp e Met, IL-6 ha poco Trp ma tanta Met, il fibrinogeno ha un buon contenuto di entrambi gli aminoacidi.

Il TNF- α dà un segnale metabolico assolutamente negativo. La sua produzione segnala la mancanza di triptofano, essenziale per gli enzimi della sintesi del DNA, e la carenza di metionina, essenziale per la sintesi delle proteine. Ci sono più di venti recettori per il TNF- α nel corpo umano, con risposte diverse. In risposta al TNF- α , alcune cellule che vivono in ambienti con più metionina producono IL-6, anche questa citochina è povera di triptofano ma è ricca di metionina e invia il segnale che si possono produrre proteine. IL-6 dal circolo sanguigno arriva al fegato dove c'è un ambiente ricco di triptofano proveniente dalla dieta. Il fegato ha dunque ricevuto un segnale che i tessuti periferici in crisi metabolica necessitano di triptofano. Il recettore per IL-6, il fibrinogeno e la macchina per stimolarne la produzione (il fattore trascrizionale STAT3), sono tutti ricchi di triptofano (circa il 2,8%). L'epatocita può dunque rispondere a IL-6 tramite il suo recettore e produrre il fibrinogeno da rilasciare in circolo, per colmare la fame di triptofano dei tessuti periferici.

Le due citochine infiammatorie, IL-6 e TNF- α , oltre a modulare la sintesi di fibrinogeno, hanno la funzione di ridurre la capacità respiratoria mitocondriale, con ridotta produzione di ATP (Chen *et al.* 2010), con minore consumo di glucosio e aminoacidi nelle cellule differenziate, in modo da poterli utilizzare per l'attività proliferativa dei linfociti. Perciò le due citochine da un lato riforniscono di triptofano i tessuti periferici che vogliono proliferare (sistema immunitario o tumore) e in contemporanea frenano il metabolismo delle cellule differenziate, a favore del metabolismo delle cellule in fase proliferativa.

c. Gli effetti dannosi delle citochine infiammatorie

Se da un punto di vista metabolico le citochine infiammatorie aiutano l'organismo a utilizzare al meglio i nutrienti, esse diventano dannose se aumentano la produzione di ROS i quali a loro volta aumentano le citochine, in un circolo vizioso di stress ossidativo che si autoamplifica e porta al COVID-19 grave.

Elevati livelli di IL-6, IL-1, TNF- α , e Proteina C Reattiva (PCR) sono associati nei soggetti anziani a un' aumentata morbilità e mortalità. In particolare, studi di coorte hanno dimostrato che TNF- α e IL-6 sono marcatori di fragilità (Michaud *et al.* 2013).

Le citochine infiammatorie hanno anche altri effetti, tra cui, molto importante, quello sugli ormoni steroidei. In particolare, le citochine diminuiscono l'attività e la trasformazione del DHEA, una delle molecole che abbiamo definito parametro metabolico e la cui diminuzione contribuisce alla fragilità.

Il DHEA prodotto nel surrene, idrofobico, viene solforilato a DHEA-Solfato per essere solubile nel sangue. Il DHEAS circolante nel sangue, entra nelle cellule bersaglio ma poi deve essere trasformato in DHEA per azione della steroide-solfatasi, e dal DHEA libero vengono sintetizzati testosterone ed estrogeni. La natura, che ha come obiettivo prevalente la riproduzione della specie in maniera efficien-

te, ha introdotto dei controlli per impedire la produzione di ormoni sessuali in individui ammalati o fortemente stressati. Il modo più semplice per ottenere tale scopo è bloccare l'attività della steroide-solfatasi con le citochine infiammatorie, stimulate sia dalla malattia infettiva che dalla vaccinazione (Weidler *et al.* 2005). Si può concludere che l'infiammazione diminuisce la disponibilità di DHEA e la produzione degli ormoni steroidei. Se questo è vero, tutti i disturbi del ciclo mestruale secondari a malattia o vaccinazione possono essere spiegati in questo modo (Al Kadri *et al.* 2023). Testosterone ed estrogeni hanno un notevole effetto sulla proliferazione delle cellule ematopoietiche e questo può aiutare a spiegare la riduzione dei bianchi e piastrine, fenomeno estremamente comune durante la pandemia 2020-2022 (Palladino 2021).

Variabilità della risposta alla vaccinazione

In molti casi i livelli di anticorpi anti SARS-CoV-2 e di d-dimero sono molto più alti nei vaccinati sani che nei guariti (osservazione confermata dalla letteratura; si vedano Rudnicka *et al.* 2007; Favalaro 2021; Pavord *et al.* 2021; de Laat *et al.* 2022; Gattringer *et al.* 2022; Kaytaz 2022; Mohseni Afshar *et al.* 2022; Ornelas-Aguirre, Gómez-Alcalá, Ramírez-Leyva 2022; Babiker *et al.* 2023; Lippi, Mullier, Favalaro 2023), e questo probabilmente dipende dalle tecnologie usate per ottimizzare la produzione di anticorpi da parte dei vaccini. In conclusione, un vaccino molto più efficiente di quelli del passato e capace di far produrre molti più anticorpi, determinerà un maggiore aumento dell'infiammazione (TNF- α , IL-6) con comparsa di sintomi visibili negli organi più sollecitati (il cuore nei giovani atleti, paralisi del facciale in tutti per via della vicinanza con la bocca spesso sede di infiammazione ecc.).

Nelle persone vaccinate i livelli di fibrinogeno e d-dimero sono sempre molto più alte che nei normali, in base a differenze individuali di cui ancora non conosciamo la moti-

vazione dato che queste osservazioni sono troppo recenti, e ritenute meno interessanti degli effetti finali (miocarditi, *brain fog*, ecc.), di cui in realtà sono la causa.

A conferma di questa ipotesi in Fourati *et al.* (2022) si dimostra l'estrema variabilità della risposta al vaccino, valutabile con determinati test in persone sane. D'altra parte, se si misurano gli anticorpi specifici dopo COVID o dopo vaccinazione la risposta varia da praticamente zero a decine di migliaia, dimostrando l'estrema eterogeneità della risposta al vaccino e dell'eventuale risposta pro-trombotica. In letteratura manca un'adeguata casistica su questo argomento, come invece suggerirebbe il dato, supportato da molti lavori, che la prognosi della malattia è tanto peggiore quanto è più alto il d-dimero (Hayiroğlu *et al.* 2021). I dati che si trovano riguardano praticamente solo il fatto che gli anticorpi dopo una dose scendono e quindi è utile il *booster* (Salvagno *et al.* 2022).

Conclusioni

In conclusione, sulla base di quanto detto, è chiaro che dopo la diffusione del COVID-19 e delle vaccinazioni di vario tipo, l'umanità non è più la stessa. Anche in assenza di eventi gravi o fatali, il livello dell'infiammazione nella popolazione è aumentato e questo condiziona una diversa morbilità, obbligandoci a riscrivere la mappa dei fattori di rischio per le malattie.

Di fronte a uno scenario nuovo, l'uso delle categorie create dall'EBM in un mondo diverso può essere più fuorviante che utile. La miocardite, ad esempio, era una malattia rara, probabilmente con cause diverse da soggetto a soggetto. L'attuale aumento delle miocarditi, post vaccino o malattia, potrebbe avere una causalità più omogenea: la stimolazione eccessiva del sistema immunitario, con un danno del muscolo cardiaco, secondario a uno stato infiammatorio generalizzato, che si manifesta nel cuore solo perché è il muscolo che lavora di più. Una più precisa definizione molecolare delle modificazioni indotte dal COVID-19 o dalla vaccinazione

nell'organismo nel suo insieme (più citochine infiammatorie/ meno produzione di energia), diverse da soggetto a soggetto, potrà portare a terapie più personalizzate ed efficaci, utilizzando la causalità basata sul meccanismo (Clarke *et al.* 2013).

18/07/2023

Bibliografia

- Al Kadri, H.M. *et al.*
 2023 *COVID-19 Vaccination and Menstrual Disorders Among Women: Findings from a Meta-Analysis Study*, in "Journal of Infection and Public Health", 16(5), 697-704 (<https://doi.org/10.1016/j.jiph.2023.02.019>).
- Babiker, N.E. *et al.*
 2023 *Coagulation Parameters Among Sudanese Individuals Vaccinated with Johnson and Johnson Vaccine at Khartoum State, 2022*, in "American Journal of Clinical and Experimental Medicine", 11(1), 9-16 (<https://doi.org/10.11648/j.ajcem.20231101.13>).
- Banach, M. *et al.*
 2015 *Statin Therapy and Plasma Coenzyme Q10 Concentrations: A Systematic Review and Meta-Analysis of Placebo-Controlled Trials*, in "Pharmacological Research", 99, 329-336 (<https://doi.org/10.1016/j.phrs.2015.07.008>).
- Barbier, O.
 2005 *Effect of Heavy Metals On, and Handling by, the Kidney*, in "Nephron Physiology", 99(4), 105-110 (<https://doi.org/10.1159/000083981>).
- BBC news
 2020 *Coronavirus: World in "uncharted territory"*, 2 marzo, su <https://www.bbc.com/news/world-51712437> [ultimo accesso 1° novembre 2024].
- Bhattacharyya, B., Chatterjee, T.K., Ghosh, J.J.
 1983 *Effects of Chloroquine on Lysosomal Enzymes, NADPH-Induced Lipid Peroxidation, and Antioxidant Enzymes of Rat Retina*, in "Biochemical Pharmacology", 32(19), 2965-2968 ([https://doi.org/10.1016/0006-2952\(83\)90403-3](https://doi.org/10.1016/0006-2952(83)90403-3)).
- Binello, E., Gordon, C.M.
 2003 *Clinical Uses and Misuses of Dehydroepiandrosterone*, in "Current opinion in pharmacology", 3(6), 635-641 (<https://doi.org/10.1016/j.coph.2003.07.006>).

- Bjørnerem, Å. *et al.*
2004 *Endogenous Sex Hormones in Relation to Age, Sex, Lifestyle Factors, and Chronic Diseases in a General Population: The Tromsø Study*, in “The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism”, 89(12), 6039-6047 (<https://doi.org/10.1210/jc.2004-0735>).
- Brieland, J.K., Fantone, J.C.
1991 *Ferrous Iron Release from Transferrin by Human Neutrophil-Derived Superoxide Anion: Effect of pH and Iron Saturation*, in “Archives of Biochemistry and Biophysics”, 284(1), 78-83 ([https://doi.org/10.1016/0003-9861\(91\)90266-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(91)90266-1)).
- Chen, X.H. *et al.*
2010 *TNF-Alpha Induces Mitochondrial Dysfunction in 3T3-L1 Adipocytes*, in “Molecular and Cellular Endocrinology”, 328(1-2), 63-69 (<https://doi.org/10.1016/j.mce.2010.07.005>).
- Chianese, R. *et al.*
2014 *Hypothalamus-Pituitary Axis: An Obligatory Target for Endocannabinoids to Inhibit Steroidogenesis in Frog Testis*, in “General and Comparative Endocrinology”, 205, 88-93 (<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2014.02.010>).
- China CDC
2020 *The Novel Coronavirus Pneumonia Emergency Response Epidemiology Team. The Epidemiological Characteristics of an Outbreak of 2019 Novel Coronavirus Diseases (COVID-19)*, in “China CDC Weekly”, 2(8), 113-122 (<https://doi.org/10.46234/ccdcw2020.032>).
- Choi, J.W., Choi, H.S.
2000 *The Regulatory Effects of Thyroid Hormone on The Activity of 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl Coenzyme A Reductase*, in “Endocrine Research”, 26(1), 1-21 (<https://doi.org/10.1080/07435800009040142>).
- Clarke, B. *et al.*
2013 *The Evidence that Evidence-Based Medicine Omits*, in “Preventive Medicine”, 57(6), 745-747 (<https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2012.10.020>).
- de Laat, B. *et al.*
2022 *Population-Wide Persistent Hemostatic Changes after Vaccination with ChAdOx1-S*, in “Frontiers in cardiovascular medicine”, 9, 966028 (<https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.966028>).
- Dirix, L.Y. *et al.*
2002 *Plasma Fibrin D-dimer Levels Correlate with Tumour Volume, Progression Rate and Survival in Patients with Metastatic Breast Cancer*, in “British Journal of Cancer”, 86(3), 389-395 (<https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6600069>).

- Dwyer, M.J. *et al.*
2020 *Physical Activity: Benefits and Challenges During the COVID-19 Pandemic*, in “Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports”, 30(7), 1291-1294 (<https://doi.org/10.1111/sms.13710>).
- Fang, X. *et al.*
2020 *Epidemiological, Comorbidity Factors with Severity and Prognosis of COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis*, in “Aging”, 12(13), 12493-12503 (<https://doi.org/10.18632/aging.103579>).
- Favaloro, E.J.
2021 *Laboratory Testing for Suspected COVID-19 Vaccine-Induced (Immune) Thrombotic Thrombocytopenia*, in “International journal of laboratory hematology”, 43(4), 559-570 (<https://doi.org/10.1111/ijlh.13629>).
- Fazio, S. *et al.*
2022 *The Problem of Home Therapy during COVID-19 Pandemic in Italy: Government Guidelines versus Freedom of Cure?*, in “Journal of Pharmacy and Pharmacology Research”, 6(3), 100-114 (<https://doi.org/10.26502/fjppr.055>).
- Fourati, S. *et al.*
2022 *Pan-Vaccine Analysis Reveals Innate Immune Endotypes Predictive of Antibody Responses to Vaccination*, in “Nature Immunology”, 23(12), 1777-1787 (<https://doi.org/10.1038/s41590-022-01329-5>).
- Gardiner, J., Oben, J., Sutcliffe, A.
2021 *Obesity as a Driver of International Differences in COVID-19 Death Rates. Diabetes, Obesity and Metabolism*, 23(7), 1463-1470 (<https://doi.org/10.1111/dom.14357>).
- Gattringer, T. *et al.*
2022 *Successful Management of Vaccine-Induced Immune Thrombotic Thrombocytopenia-Related Cerebral Sinus Venous Thrombosis After ChAdOx1 nCov-19 Vaccination*, in “Stroke and Vascular Neurology”, 7(1), 86-88 (<https://doi.org/10.1136/svn-2021-001142>).
- Gilardi, G., Di Nardo, G.
2017 *Heme Iron Centers in Cytochrome P450: Structure and Catalytic Activity*, in “Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali”, 28(1), 159-167 (<https://doi.org/10.1007/s12210-016-0565-z>).
- Hayiroğlu, M.İ. *et al.*
2021 *Mean Serum D-dimer Level to Predict In-Hospital Mortality in COVID-19*, in “Revista da Associação Médica Brasileira”, 67(3), 437-442 (<https://doi.org/10.1590/1806-9282.20200896>).
- Herak-Kramberger, C.M., Sabolic, I.
2001 *The Integrity of Renal Cortical Brush-Border and Basolateral Membrane Vesicles Is Damaged in Vitro by Nephrotoxic Heavy Me-*

- tals*, in “Toxicology”, 156(2), 139-147 ([https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(00\)00357-7](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(00)00357-7)).
- Ioannidis, J.P.A.
2020 *Global Perspective of COVID-19 Epidemiology for a Full-Cycle Pandemic*, in “European Journal of Clinical Investigation”, 50(12), e13423 (<https://doi.org/10.1111/eci.13423>).
- Karlsen, A.P.H. *et al.*
2020 *A Systematic Review of Trial Registry Entries for Randomized Clinical Trials Investigating COVID-19 Medical Prevention and Treatment*, in “PLoS One”, 15(8), e0237903 (<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0237903>).
- Kaytaz, M. *et al.*
2022 *IgG-RBD Response due to Inactivated SARS-CoV-2 Vaccine: Alteration in D-Dimer and Fibrinogen Concentrations, Association with Comorbidities and Adverse Effects*, in “Laboratory Medicine”, 53(6), 590-595 (<https://doi.org/10.1093/labmed/lmac047>).
- Kelada, S.N. *et al.*
2001 *δ -Aminolevulinic Acid Dehydratase Genotype and Lead Toxicity: A HuGE Review*, in “American Journal of Epidemiology”, 154(1), 1-13 (<https://doi.org/10.1093/aje/154.1.1>).
- Kouhpayeh, H., Ansari, H.
2022 *Adverse Events Following COVID-19 Vaccination: A Systematic Review and Meta-Analysis*, in “International Immunopharmacology”, 109, 108906 (<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2022.108906>).
- Lebrethon, M.C. *et al.*
1994 *Human Cultured Adrenal Fasciculata-Reticularis Cells Are Targets for Angiotensin-II: Effects On Cytochrome P450 Cholesterol Side-Chain Cleavage, Cytochrome P450 17 Alpha-Hydroxylase, and 3 Beta-Hydroxysteroid-Dehydrogenase Messenger Ribonucleic Acid and Proteins and On Steroidogenic Responsiveness to Corticotropin and Angiotensin-II*, in “The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism”, 78(5), 1212-1219 (<https://doi.org/10.1210/jcem.78.5.8175981>).
- Lippi, G., Mullier, F., Favaloro, E.J.
2023 *D-dimer: Old Dogmas, New (COVID-19) Tricks*, in “Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)”, 61(5), 841-850 (<https://doi.org/10.1515/cclm-2022-0633>).
- Masana, L. *et al.*
2021 *Low HDL and High Triglycerides Predict COVID-19 Severity*, in “Scientific Reports”, 11(1), 7217 (<https://doi.org/10.1038/s41598-021-86747-5>).

- McCullough, P.A. *et al.*
2021 *Pathophysiological Basis and Rationale for Early Outpatient Treatment of SARS-CoV-2 (COVID-19) Infection*, in “American Journal of Medicine”, 134(1), 16-22 ([10.1016/j.amjmed.2020.07.003](https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2020.07.003)).
- Michaud, M. *et al.*
2013 *Proinflammatory Cytokines, Aging, and Age-Related Diseases*, in “Journal of the American Medical Directors Association”, 14(12), 877-882 (<https://doi.org/10.1016/j.jamda.2013.05.009>).
- Mohseni Afshar, Z. *et al.*
2022 *Vaccine-Induced Immune Thrombotic Thrombocytopenia after Vaccination against Covid-19: A Clinical Dilemma for Clinicians and Patients*, in “Reviews in medical virology”, 32(2), e2273 (<https://doi.org/10.1002/rmv.2273>).
- Mons, B. *et al.*
2020 *Mild As Well As Severe Disease Caused by COVID-19 Might Be Part of the Same Problem: Machine-Assisted Analysis of Congruent Clinical Observations and the Underlying Molecular Mechanisms in Order to Rationalise Drug Repurposing*, in “OSF Preprints” (<https://doi.org/10.31219/osf.io/9mz27>).
- Ornelas-Aguirre, J.M., Gómez-Alcalá, A.V., Ramírez-Leyva, D.H.
2022 *Increment of D-dimer Associated with Immune Thrombotic Thrombocytopenia in ChAdOx1 nCoV-19 (AstraZeneca-Oxford) Vaccinated Individuals: A Systematic Review*, in “Archives of Medical Research”, 53(4), 341-351 (<https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2022.03.008>).
- Palladino, M.
2021 *Complete Blood Count Alterations in COVID-19 Patients: A Narrative Review*, in “Biochimica Medica”, 31(3), 030501 (<https://doi.org/10.11613/BM.2021.030501>).
- Pandolfi, S. *et al.*
2021 *Paracetamol in the Home Treatment of Early COVID-19 Symptoms: A Possible Foe Rather Than a Friend for Elderly Patients?*, in “J Med Virol”, 93(10), 5704-5706 (<https://doi.org/10.1002/jmv.27158>).
- Pavord, S. *et al.*
2021 *Clinical Features of Vaccine-Induced Immune Thrombocytopenia and Thrombosis*, in “New England Journal of Medicine”, 385(18), 1680-1689 (<https://doi.org/10.1056/NEJMoa2109908>).
- Pescarmona, G.P. *et al.*
2009 *Albumin for Treating Cancer and a Pharmaceutical Composition Comprising the Combination of an Anti-Neoplastic Agent and Albumin*, brevetto WO2009024924 (A1), 26 febbraio, su <https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?FT=D&date=2009022>

- 6&DB=&locale=en_EP&CC=WO&NR=2009024924A1&KC=A1&ND=1 [ultimo accesso 1° novembre 2024].
- Pescarmona, G.P.
- 2020 Intervento al seminario *Un modello contro il virus*, organizzato dal Centro Einaudi, Torino, 12 maggio, su <https://www.centroeinaudi.it/notizie-in-evidenza/5374-un-modello-contro-il-virus.html> e <https://www.centroeinaudi.it/images/locandine/intervento-pescarmona-mail.pdf> [ultimo accesso 1° novembre 2024].
- Pieters, J.
- 2001 *Evasion of Host Cell Defense Mechanisms by Pathogenic Bacteria*, in "Current opinion in immunology", 13(1), 37-44 ([https://doi.org/10.1016/S0952-7915\(00\)00179-5](https://doi.org/10.1016/S0952-7915(00)00179-5)).
- Piomelli, S. *et al.*
- 1982 *Threshold for Lead Damage to Heme Synthesis in Urban Children*, in "Proceedings of the National Academy of Science of USA", 79(10), 3335-3339 (<https://doi.org/10.1073/pnas.79.10.3335>).
- Ponsoda, X. *et al.*
- 1991 *Intracellular Glutathione in Human Hepatocytes Incubated with S-adenosyl-L-methionine and GSH-Depleting Drugs*, in "Toxicology", 70(3), 293-302 ([https://doi.org/10.1016/0300-483x\(91\)90004-k](https://doi.org/10.1016/0300-483x(91)90004-k)).
- Pormohammad, A. *et al.*
- 2021 *Efficacy and Safety of COVID-19 Vaccines: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials*, in "Vaccines", 9(5), 467 (<https://doi.org/10.3390/vaccines9050467>).
- Prandota, J.
- 1977 *Extrarenal Effects of Furosemide on Distribution of Salt and Water*, in "International Urology and Nephrology", 9(4), 347-352 (<https://doi.org/10.1007/BF02081953>).
- Rainey, W.E. *et al.*
- 1991 *Prostaglandin E2 Is a Positive Regulator of Adrenocorticotropin Receptors, 3β-Hydroxysteroid Dehydrogenase, and 17α-Hydroxylase Expression in Bovine Adrenocortical Cells*, in "Endocrinology", 129(3), 1333-1339 (<https://doi.org/10.1210/endo-129-3-1333>).
- Rudnicka, A.R. *et al.*
- 2007 *Diurnal, Seasonal, and Blood-Processing Patterns in Levels of Circulating Fibrinogen, Fibrin D-dimer, C-reactive Protein, Tissue Plasminogen Activator, and von Willebrand Factor in a 45-Year-Old Population*, in "Circulation", 115(8), 996-1003 (<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.635169>).
- Salgado, R. *et al.*
- 2002 *Arterio-Venous Gradients of IL-6, Plasma and Serum VEGF and D-dimers in Human Cancer*, in "British Journal of Cancer", 87(12), 1437-1444 (<https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6600655>).

Salvagno, G.L. *et al.*

2022 *The Pronounced Decline of Anti-SARS-CoV-2 Spike Trimeric IgG and RBD IgG in Baseline Seronegative Individuals Six Months after BNT162b2 Vaccination Is Consistent with the Need for Vaccine Boosters*, in “Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)”, 60(2), e29-e31 (<https://doi.org/10.1515/cclm-2021-1184>).

Sekhar, R.V. *et al.*

2011 *Deficient Synthesis of Glutathione Underlies Oxidative Stress in Aging and Can Be Corrected by Dietary Cysteine and Glycine Supplementation*, in “The American Journal of Clinical Nutrition”, 94(3), 847-853 (<https://doi.org/10.3945/ajcn.110.003483>).

Silvagno, F., Vernone, A., Pescarmona, G.P.

2020 *The Role of Glutathione in Protecting against the Severe Inflammatory Response Triggered by COVID-19*, in “Antioxidants”, 9(7), 624 (<https://doi.org/10.3390/antiox9070624>).

Sun, J. *et al.*

2020 *COVID-19: Epidemiology, Evolution, and Cross-Disciplinary Perspectives*, in “Trends in Molecular Medicine”, 26(5), 483-495 (<https://doi.org/10.1016/j.molmed.2020.02.008>).

Wang, Y. *et al.*

2021 *SARS-CoV-2 Suppresses mRNA Expression of Selenoproteins Associated with Ferroptosis, Endoplasmic Reticulum Stress and DNA Synthesis*, in “Food and Chemical Toxicology”, 153, 112286 (<https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112286>).

Washrawirul, C. *et al.*

2022 *Global Prevalence and Clinical Manifestations of Cutaneous Adverse Reactions Following COVID-19 Vaccination: A Systematic Review and Meta-Analysis*, in “Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology”, 36(11), 1947-1968 (<https://doi.org/10.1111/jdv.18294>).

Weidler, C. *et al.*

2005 *Tumor Necrosis Factor Inhibits Conversion of Dehydroepiandrosterone Sulfate (DHEAS) to DHEA in Rheumatoid Arthritis Synovial Cells: A Prerequisite for Local Androgen Deficiency*, in “Arthritis and Rheumatisms”, 52(6), 1721-1729 (<https://doi.org/10.1002/art.21112>).

Yien, Y.Y., Peretto, M.

2022 *Regulation of Heme Synthesis by Mitochondrial Homeostasis Proteins*, in “Frontiers in Cell and Developmental Biology”, 10, 895521 (<https://doi.org/10.3389/fcell.2022.895521>).

Zanetti, H.R. *et al.*

2018 *Human Immunodeficiency Virus Infection, Antiretroviral Therapy, and Statin: A Clinical Update*, in “Current Atherosclerosis Reports”, 20, 1-6 (<https://doi.org/10.1007/s11883-018-0708-z>).