



UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
DI PADOVA

Sede Amministrativa: Università degli Studi di Padova

Dipartimento di Dipartimento di Scienze del Farmaco

CORSO DI DOTTORATO DI RICERCA IN: Scienze Farmacologiche

CURRICOLO: Farmacologia, Tossicologia E Terapia

CICLO XXXVI

**Fertilità maschile e IL-23 inibitori nei pazienti con psoriasi  
moderata-severa: dalla valutazione dei parametri spermatici alla  
costruzione di un piano diagnostico terapeutico ed assistenziale  
(PDTA)**

Tesi redatta con il contributo finanziario di National Institute of Arthritis and Musculoskeletal and Skin Diseases (NIAMS) (Pilot and Feasibility # 551009 nel contesto del Grant P50AR 070590 01A1), Novartis Farma S.p.a. e Associazione Psoriasici Italiani Amici della Fondazione Corazza (APIAFCO) (Grant APIAFCO 2023), Università degli Studi di Milano (Research Support Plan, Line 2 2022 e 2023)

**Coordinatore:** Ch.mo Prof. Nicola Ferri

**Supervisore:** Ch.mo Prof.ssa Alessandra Buja

**Co-Supervisore:** Ch.mo Prof. Kevin D. Cooper

**Dottorando :** Giovanni Damiani

## INDICE

<b>SUMMARY</b> .....	<b>4</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>5</b>
<b>1.0 INTRODUZIONE</b> .....	<b>7</b>
1.1 Inquadramento clinico della psoriasi.....	7
1.2 Th-17, psoriasi ed infiammazione sistemica.....	7
1.3 La terapia della psoriasi con farmaci biologici attualmente in commercio.....	8
1.4 Infertilità maschile organica e psoriasi.....	8
1.5 Spermatogenesi ed infiammazione.....	10
1.6 Modello del varicocele.....	12
<b>2.0 METODI</b> .....	<b>13</b>
2.1 Metabolomica cutanea nei pazienti con psoriasi.....	13
2.1.1 Arruolamento del paziente.....	13
2.1.2 Biopsia e stoccaggio del materiale bioptico.....	14
2.1.3 Analisi metabolomica.....	14
2.1.4 Analisi statistica.....	15
2.2 Revisione sistematica della letteratura su malattie autoimmuni e parametri spermatici.....	17
2.3 Valutazione epidemiologica di infertilità maschile e psoriasi in Italia e nel mondo utilizzando le stime del Global Burden of Diseases.....	18
2.3.1 Fertilità maschile.....	18
2.3.2 Psoriasi.....	18
2.4 Studio di associazione genome-wide tra psoriasi e infertilità maschile.....	22
2.5 Revisione delle linee guida sul trattamento sistemico della psoriasi e redazione del consensus italiano ed internazionale sul metotressato.....	22
2.6 Comorbidoma dei pazienti con psoriasi che sviluppano infertilità maschile utilizzando il CLALIT database.....	23
2.7 Survey sui pazienti che in terapia biologica con desiderio di paternità.....	24
2.8 Survey telefonico nei centri di fertilità italiani sull'argomento farmaci della psoriasi e PMA.....	24
2.9 Spermogramma e DNA fragmentation in pazienti naïve per trattamento sistemico.....	25
2.10 Correlazione tra caratteristiche cristallografiche degli epitopi riconosciuti dagli IL-23i ed efficacia (short- e long-term).....	25
2.10.1 Analisi dell'epitopo IL-23.....	25
2.10.2 Correlazione delle proprietà dell'epitopo inibitorio con l'affinità di legame, la cinetica e la risposta clinica.....	26
2.10.3 Analisi statistica.....	26
2.11 Studio genome-wide dei polimorfismi della subunità p19 dell'IL-23 e dei relativi epitopi riconosciuti dagli IL-23i in commercio.....	26
2.12 Analisi del database VigiBase per la valutazione della potenziale disfunzione erettile indotta dagli inibitori IL-12/IL-23, IL-23, IL-17 e IL-17R.....	27
2.13 Valutazione della frammentazione del DNA spermatico pre e post trattamento con risankizumab.....	28
2.14 Creazione di una proposta di PDTA incentrato su psoriasi moderata-grave e desiderio di paternità.....	28
<b>3.0 RESULTS</b> .....	<b>32</b>
3.1 Metabolomica cutanea nei pazienti con psoriasi.....	32
3.2 Revisione sistematica della letteratura su psoriasi e parametri spermatici.....	37
3.3 Valutazione epidemiologica di infertilità maschile e psoriasi in Italia e nel mondo utilizzando le stime del Global Burden of Diseases.....	38
3.3.1 Fertilità maschile.....	38
3.3.2 Psoriasi.....	39
3.4 Studio di associazione genome-wide tra psoriasi e infertilità maschile.....	39

3.5 Revisione delle linee guida sul trattamento sistemico della psoriasi e redazione del consensus italiano ed europeo sul metotressato.....	39
3.6 Comorbidoma dei pazienti con psoriasi che sviluppano infertilità maschile utilizzando il CLALIT database.....	40
3.7 Survey sui pazienti in terapia biologica con desiderio di paternità.....	42
3.8 Survey telefonico nei centri di fertilità italiani sull'argomento farmaci della psoriasi e PMA...	43
3.9 DNA fragmentation in pazienti naïve per trattamento sistemico.....	44
3.10 Correlazione tra caratteristiche cristallografiche degli epitopi riconosciuti dagli IL-23i ed efficacia (short- e long-term).....	44
3.11 Studio genome-wide dei polimorfismi della subunità p19 dell'IL-23 e dei relativi epitopi riconosciuti dagli IL-23i in commercio.....	47
3.12 Analisi del database VigiBase per la valutazione della potenziale disfunzione erettile indotta dagli inibitori IL-12/IL-23, IL-23, IL-17 e IL-17R.....	48
3.13 Valutazione della frammentazione del DNA spermatico pre e post trattamento con risankizumab.....	49
3.14 Creazione di una proposta di PDTA incentrato su psoriasi moderata-grave e desiderio di paternità.....	49
<b>4.0 CONCLUSIONI.....</b>	<b>51</b>

## SUMMARY

Psoriasis a chronic inflammatory disease with a potential effect also on male fertility. Existing literature neglected two main aspects in terms of male fertility and psoriasis, namely sperm functionality in systemic treatment naïve patients with moderate-to-severe psoriasis (PsO) and biologics effect on sperm functionality.

Untargeted metabolomics analysis of lesional and non-lesional skin of patients with psoriasis compared with healthy controls revealed two metabolites (L-Acetylcarnitine and hypotaurine) capable to link psoriasis with male infertility. Genome wide association failed to find common predisposing polymorphisms analysing IL-17 and IL-23 related genes, orienting toward an inflammatory pathogenetic mechanisms connecting the two disorders. Furthermore, the topic was not reported or even mentioned in any of the published Italian guidelines, but 12.6% of PsO patients had used medically assisted procreation (PMA) with lower positive results than healthy controls. Remarkably, in our telephonic survey emerged that PMA centers neglected PsO, PsO-related drugs or even anti-psoriatic drug interferences with PMA. In line with the inflammatory hypothesis, 11 PsO patients with moderate-to-severe disease, naïve to systemic therapies displayed sperm DNA fragmentation index (DFI%) >30, suggesting that inflammation deeply compromise spermatozoa DNA integrity.

CLALIT-derived comorbidity of patients with PsO that developed concurrent male infertility suggests that hyperlipidemia, tuberculosis, onco-hematological tumors and psoriatic arthritis (PsA) are the main risk factors. In literature IL-23 inhibitors (i) were reported as the most effective drugs capable to obstacle PsA occurrence in PsO patients. Thus, to predict IL-23i primary failures, drug targeted epitopes on p19 subunit of IL-23 were characterized with crystallography and linked to short (10-16 weeks) and long-term (44-60 weeks) efficacy. Interestingly, epitope size is directly related to efficacy, conversely  $K_D$  and  $K_{off}$  were inversely correlated. Among IL-23i, risankizumab exhibits the best efficacy profile. At the same time all the 572 GWAS variants of p19 were evaluated with particular attention of non-synonym, epitope related ones finding that 10 of them predispose to IL-23i class resistance, 2 to both tildrakizumab and risankizumab, 4 to both risankizumab and guselkumab, 29 to guselkumab, 7 to risankizumab, 2 to tildrakizumab.

Then, drug-induced erectile dysfunction (EF) was also tested on Vigibase: risankizumab demonstrated a protective effect, followed by secukinumab, ixekizumab and guselkumab, conversely tildrakizumab and brodalumab increased the EF risk. Thus, based on these results I treated the 11 PsO patients with DFI>30 with Risankizumab and after 16 weeks they significantly improved their DFI ( $p<0.001$ ). Remarkably, 50% of them achieved an acceptable DFI. Finally, a diagnostic therapeutic care plan (PDTA) was created to standardize the patient journey of PsO moderate to severe individuals with a desire for fatherhood.

In conclusion, early and not discontinued treatment with IL-23i is mandatory to improve the spermatozoa functionality in PsO patients.

## ABSTRACT

### Introduzione

La psoriasi è una patologia infiammatoria cronica sistemica gravata da un ricco stuolo di comorbidità (dermatologiche e non dermatologiche). Purtroppo ad ora il suo impatto sui parametri funzionali degli spermatozoi rimane dibattuto e scarsamente indagato. Trattando con farmaci sistemici pazienti sempre più giovani con desiderio di paternità appare cruciale per la pratica clinica andare a valutare eventuali effetti indesiderati farmaco-indotti in tale ambito.

### Materiali e metodi

La cute lesionale e non lesionale di soggetti con psoriasi moderata grave è stata confrontata con quella di soggetti sani utilizzando la *untarget metabolomics* alla ricerca di potenziali *pathways* alterati in grado di predisporre ad un quadro di infertilità maschile. È seguita una revisione sistematica della letteratura e delle linee guida italiane pubblicate dal 1990 ad ora incentrate sulla psoriasi/artite psoriasica. Per caratterizzare la potenziale associazione sono seguite una analisi delle prevalenze delle due condizioni (psoriasi ed infertilità maschile) nel database Global Burden of Diseases (GBD) ed una analisi *genome-wide* di associazione. La potenziale associazione è stata, poi, approfondita in un database clinico israeliano (CLALIT) componendo il comorbidoma dei pazienti che dopo una diagnosi di psoriasi sviluppavano infertilità maschile. Al fine caratterizzare le potenziali alterazioni indotte dall'infiammazione sistemica sulla funzionalità degli spermatozoi, si è eseguito il test di frammentazione del DNA spermatico (DFI) in pazienti naïve per trattamenti sistemici. Dopo l'intervista a pazienti psoriasici con desiderio di paternità candidati alla terapia biologica ed il survey telefonico ai centri di procreazione medicalmente assistita italiani, sono stati caratterizzati strutturalmente in cristallografia gli epitopi riconosciuti dai farmaci anti-IL-23 attualmente in commercio in Italia, le caratteristiche di tali epitopi sono poi state correlate con l'efficacia del farmaco nel breve (10-16 settimane) e nel lungo termine (44-60 settimane). Si sono poi valutate le varianti genetiche non sinonime della subunità p19 dell'IL-23 che riguardassero gli epitopi per caratterizzare eventuali gruppi di pazienti primariamente *non responders*, mentre la potenziale disfunzione erettile farmaco-indotta è stata indagata nel database Vigibase. Caratterizzato il farmaco anti-IL-23 con il miglior profilo sono stati trattati i pazienti naïve e monitorati a 16 settimane con la DFI. Alla luce dei risultati ottenuti è stato costruito un potenziale Piano Diagnostico terapeutico Assistenziale (PDTA) per i pazienti con psoriasi e desiderio di paternità candidati alla terapia biologica.

### Risultati

L'indagine di metabolomica ha rivelato che alcuni metaboliti (L-acetilcarnitina ed ipotaurina) erano disregolati ( $p < 0.001$ ) e comuni anche all'infertilità maschile. La revisione della letteratura ha rivelato che la funzionalità spermatica non era stata studiata in pazienti con psoriasi né menzionata nelle linee guida italiane. Scarsa conoscenza dell'argomento è emersa anche dai questionari sottoposti ai pazienti e dalla survey ai centri di PMA intervistati. Il DFI di 11/11 pazienti con psoriasi moderata grave è risultato non accettabile. Il comorbidoma ha delineato che i fattori di rischio per lo sviluppo dell'infertilità maschile post-diagnosi di psoriasi erano iperlipidemia, fumo, tubercolosi, tumori onco-ematologici e l'artrite psoriasica (PsA). Siccome gli anti-IL-23 sono i farmaci anti-psoriasici che maggiormente ostacolano lo sviluppo di PsA, sono state

analizzate in cristallografia le caratteristiche degli epitopi riconosciuti dagli IL-23i e poi valutate le 572 varianti della p19 segnalate nel GWAS; tra le non sinonime riguardanti gli epitopi sono state ritrovate 10 varianti che conferivano una resistenza di classe. Da una attenta valutazione dei profili di efficacia e di disfunzione erettile farmaco-indotta è emerso che risankizumab esibiva il profilo migliore. Pertanto, gli 11 pazienti con DFI>30% sono stati trattati con tale farmaco ottenendo a 16 settimane un miglioramento del DFI statisticamente significativo. Si è pertanto redatta una proposta di PDTA per questi pazienti facendo un rank di farmaci biologici preferibili in questo subset specifico di pazienti.

### **Conclusioni**

Iniziare precocemente il trattamento con IL-23 inibitori e non discontinuarlo salvaguarda la funzionalità spermatica dei pazienti con psoriasi e potenzialmente aumenta il successo delle pratiche di PMA.

## 1.0 INTRODUZIONE

### 1.1 Inquadramento clinico della psoriasi

La psoriasi è una patologia infiammatoria cronica della cute, ad apparente appannaggio esclusivo dermatologico, con una forte predisposizione genetica (familiarità 20-30%). La prevalenza mondiale è di circa il 2%, seppur differenze etniche siano presenti e motivino un range che spazia dall'1% della popolazione africana 11% nelle popolazioni scandinave<sup>1</sup>.

Da un punto di vista medico la diagnosi di psoriasi è meramente clinica e si basa sulla valutazione sulla presenza di placche desquamanti a larghi lembi con variabile infiltrazione ed eritema. Ad ora non vi sono biomarkers validati per la diagnosi, ma la pratica clinica li reclama per la prognosi e la risposta ai farmaci sistemici (biologici e convenzionali).

Vi sono differenti varianti cliniche di malattia (i.e. forma guttata o inversa), ma il lavoro di tesi si è incentrato unicamente sulla variante della psoriasi volgare o psoriasi a placche, la più comune (>90%). Clinicamente le sedi più colpite sono le estensorie acrali, il tronco ed il cuoio capelluto.<sup>2</sup> Sebbene le lesioni cutanee siano evidenti, la psoriasi è una patologia infiammatoria sistemica e, dopo il sistema tegumentario, le articolazioni risultano essere le più colpite.

La diagnosi istologica si avvale di alcune caratteristiche patognomiche da ricercare per la diagnosi differenziale con altre dermatosi infiammatorie: (1) un'epidermide ispessita da rapida proliferazione dei cheratinociti e differenziamento aberrante, (2) uno strato granuloso ridotto o assente, (3) marcata dilatazione di vasi sanguigni nel derma papillare e (4) densi ammassi di cellule infiammatorie composte da cellule T e cellule dendritiche in il derma, e cellule T CD8+ e neutrofili nell'epidermide. L'infiammazione non è limitata alla cute lesionale psoriasica, ma può coinvolgere anche altri sistemi concretizzando danno d'organo. Pertanto, è stato postulato che la psoriasi sia un'entità sistemica piuttosto che una malattia esclusivamente dermatologica. A comprova di questa ipotesi i pazienti con psoriasi hanno un'augmentata concentrazione di citochine pro-infiammatorie (TNF- $\alpha$ , IL-17, IL-1 $\beta$ ) a livello ematico che si traducono in una infiammazione dapprima endoteliale e successivamente dell'intera parete vasale<sup>3</sup>.

### 1.2 Th-17, psoriasi ed infiammazione sistemica

La patogenesi della psoriasi e delle sue comorbilità (es. patologie cardiovascolari) è indissolubilmente legata ai Th17 ed ai Th1 e, più direttamente, all'IL-17 prodotta nella placca psoriasica. Le associazioni genome-wide ed in generale gli studi genetici hanno collegato la patogenesi della psoriasi con l'IL-17 e con mutazioni del suo pathway di segnalazione. Le analisi molecolari e cellulari della cute psoriasica hanno

---

<sup>1</sup> Damiani G, Bragazzi NL, Karimkhani Aksut C, Wu D, Alicandro G, McGonagle D, Guo C, Dellavalle R, Grada A, Wong P, La Vecchia C, Tam LS, Cooper KD, Naghavi M. The Global, Regional, and National Burden of Psoriasis: Results and Insights From the Global Burden of Disease 2019 Study. *Front Med (Lausanne)*. 2021 Dec 16;8:743180.

<sup>2</sup> Danielsen K., Olsen A.O., Wilsgaard T., Furberg A.S. Is the prevalence of psoriasis increasing? A 30-year follow-up of a population-based cohort. *Br. J. Dermatol.* 2013;168:1303–1310.

<sup>3</sup> Kimball A.B., Guerin A., Latremouille-Viau D., Yu A.P., Gupta S., Bao Y., Mulani P. Coronary heart disease and stroke risk in patients with psoriasis: Retrospective analysis. *Am. J. Med.* 2010;123:350–357.

umentato la nostra comprensione della patogenesi della malattia, superando il paradigma della patologia meramente Th1 mediata.

Sia le valutazioni in vitro che gli studi clinici hanno innegabilmente confermato il contributo centrale di IL-17 alla psoriasi volgare e all'artrite psoriasica. L'espressione di IL-17A, IL-17C (derivazione cheratinocitaria) e IL-17F è più elevata nel tessuto lesionale psoriasico rispetto al tessuto non lesionale<sup>4</sup>. Le biopsie di cute lesionale confermano un decrescere della positività IL-17 dal centro della placca al bordo dove prevale, invece, l'interferon gamma. Concordi gli studi sulla patogenesi della psoriasi hanno confermato i *pathways* principalmente coinvolti, quali il TNF-alpha e IL-17/IL-23<sup>5</sup>. Da notare che i due pathways risultano essere sinergici e amplificantesi, pertanto un antagonismo tonico dell'uno agisce anche sull'altro. L'interazione sinergica tra IL-17 e TNF, così come la regolazione di IL-17 da parte di IL-23, è un potenziale tema unificante nella comprensione del successo di diversi agenti terapeutici nella psoriasi, inclusi gli inibitori della calcineurina e gli anticorpi diretti contro il TNF, IL-12/23-p40, IL-23p19, IL-17A e IL-17 recettore A<sup>6</sup>.

### 1.3 La terapia della psoriasi con farmaci biologici attualmente in commercio

La terapia con farmaci biologici (*target therapy*) è tassonomicamente suddivisibile in:

- Inibitori del TNF-alpha: etanercept, adalimumab, infliximab, certolizumab
- Inibitori del IL-12/IL-23: ustekinumab
- Inibitori dell' IL-17: secukinumab, ixekizumab, bimekizumab
- Inibitori del recettore dell'IL-17: brodalumab
- Inibitori dell'IL-23: tildrakizumab, risankizumab, guselkumab

Per le prime due classi sono, inoltre, presenti biosimilari che vengono preferiti agli *originator* a meno che non vi siano motivazioni specifiche per l'utilizzo dell'*originator* che devono essere adeguatamente documentate dal clinico prescrittore.

Sebbene siano presenti numerosi studi e meta-analisi in materia di efficacia, sicurezza e caratteristiche dei singoli farmaci, ad ora le linee guida non presentano alcuna gerarchia di utilizzo dei farmaci biologici. Tale gerarchia viene imposta, però, a livello locale sulla base della farmacoeconomia.

Da notare che non vi sono valutazioni approfondite in materia di fertilità maschile per nessuno dei farmaci menzionati.

### 1.4 Infertilità maschile organica e psoriasi

L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) considera l'infertilità una patologia e la definisce come l'assenza di concepimento dopo 12/24 mesi di regolari rapporti

---

<sup>4</sup> Johansen C, Usher PA, Kjellerup RB, Lundsgaard D, Iversen L, Kragballe K. Characterization of the interleukin-17 isoforms and receptors in lesional psoriatic skin. *Br J Dermatol.* 2009 Feb;160(2):319-24.

<sup>5</sup> Nograles KE, Zaba LC, Guttman-Yassky E, Fuentes-Duculan J, Suárez-Fariñas M, Cardinale I, Khatcherian A, Gonzalez J, Pierson KC, White TR, Pensabene C, Coats I, Novitskaya I, Lowes MA, Krueger JG. Th17 cytokines interleukin (IL)-17 and IL-22 modulate distinct inflammatory and keratinocyte-response pathways. *Br J Dermatol.* 2008 Nov;159(5):1092-102.

<sup>6</sup> Hartupee J, Liu C, Novotny M, Li X, Hamilton T. IL-17 enhances chemokine gene expression through mRNA stabilization. *J Immunol.* 2007 Sep 15;179(6):4135-41.



sessuali mirati non protetti. In realtà la definizione andrebbe rimodulata, distinguendo tra “sterilità” (che riguarda un numero ridotto di situazioni in cui non è possibile la risoluzione) e “ipofertilità” o “subfertilità”, dove è possibile risolvere il problema con opportuni presidi. La condizione di ipofertilità/infertilità riguarda circa il 15-20% delle coppie. Ad accentuare il problema concorrono sicuramente, almeno nel mondo occidentale, fattori socio-economici che ritardano la pianificazione familiare verso fasce di età in cui la fertilità tende a essere fisiologicamente ridotta. In particolare, secondo i dati forniti dall'Istituto Superiore di Sanità, nel 35% dei casi risulta preponderante il fattore maschile, nel 35% dei casi risulta preponderante il fattore femminile, nel 15% vi è un fattore di coppia, ossia una condizione in cui coesistono una subfertilità maschile e femminile, e nel restante 15% l'eziologia rimane sine causa<sup>7</sup>.

L'infertilità maschile organica può essere dovuta a cause pre-testicolari (secretorie) e/o a cause testicolari (secretorie)<sup>8</sup>.

**Cause pre-testicolari (secretorie):** sono dovute ad anomalie ipotalamo-ipofisarie; si tratta di casi di **ipogonadismo ipogonadotropo**, con ridotti livelli di testosterone e di gonadotropine, e con azoospermia. Queste forme possono essere distinte in:

- congenite: la forma più frequente è rappresentata dalla sindrome di Kallmann, con eredità *X-linked*, dovuta alla mutazione del gene *Kal-1*, e associata ad anosmia;
- acquisite: frequentemente esiti di traumi cranici o interventi per neoplasie ipofisarie o ipotalamiche, spesso con un quadro di ipopituitarismo multiplo o di panipituitarismo.

**Cause testicolari (secretorie):** dovute a vario grado di alterazione dei tubuli seminiferi, sono le più numerose e possono essere distinte in:

- **dispermie da cause “pregresse”**, ossia con fattore eziopatogenetico ben identificabile, di natura congenita o acquisita. In tutte queste forme il quadro clinico è rappresentato generalmente da ipoplasia testicolare bilaterale, azoospermia o severa oligo-asteno-teratozoospermia, vario grado di ipotestosteronemia ed elevati livelli di gonadotropine. Possono essere ulteriormente distinte in:
  - Congenite:
    1. anomalie genetiche: rappresentate frequentemente dalla sindrome di Klinefelter (con cariotipo XXY e relativi mosaici) e dalle traslocazioni reciproche e robertsoniane; tra le altre anomalie, molto meno frequenti, la sindrome del maschio XX o quelle che riguardano specificamente gli spermatozoi (spermatozoi con testa a palla, per l'assenza dell'acrosoma, e spermatozoi a coda mozza);
    2. microdelezioni del cromosoma Y, in corrispondenza della regione eucromatica, dove si trova il “fattore azoospermico” AZF;
    3. criptorchidismo, ossia mancata discesa di uno o entrambi i testicoli nel sacco scrotale;

---

<sup>7</sup> Quaderni del Ministero della Salute. Criteri di appropriatezza strutturale, tecnologica e clinica nella prevenzione, diagnosi e cura delle patologie andrologiche, **2012**

<sup>8</sup> Naz, M., Kamal, M. Classification, causes, diagnosis and treatment of male infertility: a review. Orient Pharm Exp Med 17, 89–109 (2017).

4. sindrome a sole cellule del Sertoli, senza elementi della linea spermatogenica nei tubuli;
  5. sindrome da insensibilità recettoriale agli androgeni;
- Acquisite: il danno spermatogenetico può essere dovuto a:
1. esiti di orchiepididimiti, di torsioni funicolari bilaterali, di traumi e di complicanze di interventi chirurgici;
  2. neoplasie con successiva chemioterapia e/o radioterapia;
  3. dispermie con patologie "in atto", ossia situazioni in cui la patologia non è un fattore patogenetico certo ed esclusivo, ma può concorrere, con varie modalità, ad un quadro di alterazione spermatogenetica, generalmente di grado lieve/medio e con normale profilo ormonale. Tra queste, le più importanti sono rappresentate da:
    4. flogosi e infezioni del tratto genitale, tra cui prostatiti, vescicoliti ed epididimiti, dovute a batteri, *Chlamydia Trachomatis*, *Mycoplasma Hominis*, ecc;
    5. varicocele;
    6. endocrinopatie, tra cui: disregolazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-testicolo, iper- e ipotiroidismo, iperprolattinemia e malattie dismetaboliche (in particolare il diabete mellito);
    7. autoimmunità anti-spermatozoo, dovuta all'incontro tra gli antigeni spermatici e il sistema immuno-competente;
    8. stress ossidativo, dovuto a iperproduzione di specie reattive di ossigeno o all'inefficacia del *sistema scavenger*;
    9. dispermie idiopatiche: situazioni in cui è presente il sintomo "dispermia", ma non sono evidenziabili aspetti eziopatogenetici ben definiti, né clinicamente, né con i presidi diagnostici a disposizione.

La psoriasi, in quanto patologia infiammatoria sistemica, sembrerebbe andare ad influenzare la dinamica di spermatogenesi e rientrare all'interno delle cause testicolari di infertilità maschile.

### 1.5 Spermatogenesi ed infiammazione

Il testicolo rappresenta un cosiddetto organo santuario, dotato quindi di una resistenza importante all'infiammazione sistemica e di un sistema immunitario che dotato di una certa tolleranza immunologica. Sebbene la spermatogenesi avvenga al suo interno, il liquido seminale, è prodotto dalla prostata e dalle vescichette seminali al di fuori di questo ambiente immunologicamente privilegiato e può, quindi, risentire dell'infiammazione sistemica.

La spermatogenesi è un processo in cui le cellule germinali proliferano e si differenziano in spermatozoi. L'inizio della spermatogenesi avviene alla pubertà ed è garantito dallo sviluppo e funzionamento di uno specifico ambiente immunitario nei testicoli e dall'esistenza *tight junctions* tra le cellule del Sertoli che formano la barriera emato-testicolare. La barriera anatomica tra vasi sanguigni e tubuli seminiferi aiuta gli antigeni delle cellule germinali post-meiotiche a sfuggire al sistema immunitario

dell'ospite sorveglianza evitando l'instaurarsi di spiacevoli casi di autoimmunità<sup>9</sup>. La secrezione di citochine pro-infiammatorie (i.e. IL-17, TNF- $\alpha$  e IL-6) è affidata a numerosi citotipi nel testicolo umano - incluso cellule somatiche, interstiziali e intratubulari. L'interleuchina (IL)-6 è considerata una citochina pleiotropica ed è sintetizzata numerosi citotipi tra cui le cellule del Sertoli stimulate dall'ormone follicolo-stimolante, e/o testosterone e neuropeptidi. *In vitro* i modelli hanno indicato che le cellule di Leydig possono produrre IL-6 dopo stimolazione dell'ormone luteinizzante (LH). I modelli murini hanno confermato l'influenza dell'IL-6 sul funzionamento del seminifero epitelio attraverso la stimolazione della transferrina sintasi da parte delle cellule del Sertoli e l'inibizione della DNA sintasi negli spermatociti pre-leptoteni<sup>10</sup>. Di conseguenza, IL-6 è stata riconosciuta come mediatore autocrino e paracrino operante sulle cellule del Sertoli.

Le iniezioni sottocutanee di IL-6 hanno, però, causato dei livelli di testosterone aumentando i ROS prodotti con la respirazione mitocondriale disaccoppiata. Questi dati andrebbero a chiarire come mai l'IL-6 contribuisca a creare resistenza testicolare a LH e soppressione della steroidogenesi nelle Cellule di Leydig. Inoltre, anche altre citochine pro-infiammatorie (i.e. IL-17) possono inibire le gonadotropine o la steroidogenesi andando ad agire sui livelli intracellulari di AMPc nelle cellule di Leydig. L'interleuchina-10 è la principale citochina anti-infiammatoria nell'uomo e risulta maggiormente presente negli individui fertili rispetto agli infertili. Tale risultato è stato confermato anche in pazienti con infertilità indotta da fenomeni infiammatori sistemici. Questi preliminari risultati sembrano suggerire un ruolo cruciale dell'IL-10 nel testicolo, considerando che una delle funzioni più caratterizzate rimane l'inibizione del riconoscimento degli antigeni da parte dei linfociti T<sup>11</sup>. A guisa di conferma della teoria esposta, gli individui con criptorchidismo presentano elevati livelli di IL-10 che potrebbe prevenire il riconoscimento di antigeni testicolari del testicolo ritenuto<sup>12</sup>. Risulta ancora poco chiaro il ruolo del TNF- $\alpha$  nella spermatogenesi, ma sembra implicato nella modulazione negativa della steroidogenesi e dell'apoptosi degli spermatozoi anomali<sup>13</sup>.

Per questo motivo la valutazione delle citochine pro-infiammatorie nei liquidi seminali dovrebbe rientrare in futuro all'interno dello screening routinario in pazienti con sospetta infertilità maschile.

## 1.6 Modello del varicocele

Il varicocele è una malattia vascolare che colpisce le vene del plesso pampiniforme, rilevabile in circa il 41% dei casi di infertilità maschile primaria, aumentando fino

---

<sup>9</sup> Griswold MD: The central role of Sertoli cells in spermatogenesis. *Semin Cell Dev Biol* 1998; 9:411–416.

<sup>10</sup> Tsigos C, Papanicolaou DA, Kyrou I, Raptis SA, Chrousos GP: Dose-dependent effects of recombinant human interleukin-6 on the pituitary-testicular axis. *J Interferon Cytokine Res* 1999; 19:1271–1276.

<sup>11</sup> Ding L, Linsley PS, Huang LY, Germain RN, Shevach EM: IL-10 inhibits macrophage costimulatory activity by selectively inhibiting the up-regulation of B7 expression. *J Immunol* 1993; 151:1224–1234.

<sup>12</sup> Penttinen V, Erkkila K, Suomalainen L, Ojala M, Penttinen MO, Parvinen M, Dunkel L: TNF $\alpha$  down-regulates the Fas ligand and inhibits germ cell apoptosis in the human testis. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:4480–4488

<sup>13</sup> Janitz M, Fiszler D, Michalczak-Janitz K, Lukaszyk A, Fernandez N, Skorupski W, Kurpisz M: Analysis of mRNA for class I HLA on human gametogenic cells. *Mol Reprod Dev* 1994; 38:231–237.

all'80% dei casi di infertilità secondaria<sup>14</sup>. È associato al peggioramento della qualità dello sperma (morfologia e funzionalità). I meccanismi attraverso i quali il varicocele può danneggiare la qualità dello sperma includono ipertermia, ipoperfusione e ipossia, così come l'instaurarsi dello stress ossidativo nel microambiente testicolare<sup>15</sup>. Infatti, è stato dimostrato che i pazienti con varicocele mostrano alti livelli di frammentazione del DNA spermatico (SDF) e apoptosi insieme a un aumento dello stress ossidativo dovuto a livelli elevati di specie reattive dell'ossigeno (ROS) e livelli ridotti di antiossidanti nel plasma seminale. Inoltre, nei pazienti con varicocele è stata riportata un'espressione alterata delle citochine seminali, suggerendo l'instaurarsi e/o la coesistenza di un processo infiammatorio. Le citochine pro-infiammatorie, come IL-1 $\alpha/\beta$ , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , sono fisiologicamente secrete nel liquido seminale dalle cellule immunitarie e somatiche in piccole quantità per coadiuvare e regolare la spermatogenesi<sup>16</sup>. Un'alterazione delle concentrazioni delle suddette citochine pro-infiammatorie regolanti i ROS può rendersi responsabile di un alterato potenziale fertilizzante degli spermatozoi del soggetto.

D'altro canto, è però provato che il modello di infiammazione del varicocele grave che parte dal testicolo (localizzato) per arrivare al circolo (sistemico), potrebbe in qualche modo spiegare come la psoriasi (sistemica) possa influenzare le dinamiche localizzate della spermatogenesi. Unica differenza è che nel varicocele l'infiammazione si sviluppa in un organo santuario da un punto di vista immunologico poi si diffonde al circolo, mentre nella psoriasi l'infiammazione parte sistemica e si dovrebbe diffondere all'organo santuario.

## **2.0 METODI**

### **2.1 Metabolomica cutanea nei pazienti con psoriasi<sup>17</sup>**

#### *2.1.1 Arruolamento del paziente*

All'interno della coorte del Murdough Family Center for Psoriasis degli UH Hospitals sono stati scelti con una tabella randomizzata 12 pazienti adulti caucasici con psoriasi tra coloro che sono stati visitati nel 2020 e che soddisfavano i seguenti criteri di inclusione ed esclusione descritti di seguito.

---

<sup>14</sup> Jensen CFS, Østergren P, Dupree JM, Ohl DA, Sønksen J, Fode M. Varicocele and male infertility. *Nat Rev Urol.* 2017 Sep;14(9):523-533.

<sup>15</sup> Miyaoka R, Esteves S.C. A critical appraisal on the role of varicocele in male infertility. *Advances in Urology,* 2012, 597495

<sup>16</sup> Fraczek M, Kurpisz M. Cytokines in the male reproductive tract and their role in infertility disorders. *J Reprod Immunol.* 2015 Apr;108:98-104

<sup>17</sup> Comitato etico del University Hospitals Cleveland Medical Center Data (IRB 04-13-21 e 05-95-03). Lo studio è stato sostenuto interamente dal Pilot and Feasibility grant # 551009 ottenuto nel contesto del P50AR 070590 01A1 del National Institute of Arthritis and Musculoskeletal and Skin Diseases (NIAMS) con P.I. il Prof. Kevin D. Cooper.

I criteri di inclusione erano: a) pazienti psoriasici adulti (> 21 anni), b) periodo di wash-out di 4 settimane per terapie sistemiche e topiche. I criteri di esclusione includono: a) nessuna artrite psoriasica (questionario PEST negativo, CASPAR <3, ecografia e risonanza magnetica negativi per entesite), b) nessuna malattia cronica (diabete, malattia renale ed epatica), c) negatività per HIV, HBV o HCV, d) nessuna malattia infettiva acuta, e) nessuna vaccinazione intradermica nei 4 mesi precedenti.

I controlli, appaiati per sesso ed età, sono stati scelti tra i pazienti riferiti al dipartimento di dermatologia per lo screening routinario dei nevi all'interno di programmi per la medicina del lavoro.

Prima di contattare i pazienti o anche solo consultare le cartelle cliniche relative, il Comitato Etico dell'Istituto ha analizzato il protocollo e lo ha approvato. Ogni paziente arruolato ha firmato un modulo di consenso scritto prima della partecipazione allo studio.

### *2.1.2 Biopsia e stoccaggio del materiale bioptico*

La biopsia è stata eseguita con punch di 6 mm di diametro in anestesia locale (lidocaina 5%). Il campione è poi stato congelato in azoto liquido e conservato a -80 ° C per inibire il catabolismo tissutale. Trentatré (N=33) campioni di tessuto cutaneo (12 coppie di cute lesionale e non lesionale (N=24) e N=9 controlli sani) sono stati collezionati e divisi con un bisturi in parti uguali per l'analisi sulle piattaforme GC / MS (Cromatografia gassosa/ Spettrometria di massa) e LC / MS / MS (Cromatografia liquida/Spettrometria di massa/ Spettrometria di massa) e l'analisi globale del metabolita. I campioni sono stati estratti utilizzando un solvente standard per piattaforme GC / MS e LC / MS / MS. La statistica lineare è stata utilizzata per identificare i metaboliti che differivano significativamente tra cute lesionale (Psor Inv) e non lesionale (Psor UI) e controlli.

### *2.1.3 Analisi metabolomica*

Prima di procedere con l'analisi metabolomica, ogni campione è stato recuperato da freezer -80 ° C e verificato. Il processo di preparazione del campione è stato effettuato utilizzando il sistema automatizzato MicroLab STAR® della Hamilton Company. Gli standard di recupero sono stati aggiunti prima della prima fase del processo di estrazione per scopi di controllo qualità. La preparazione del campione è stata condotta utilizzando kit brevettato di composti organici e acquosi per rimuovere la frazione proteica consentendo il massimo recupero delle molecole più piccole.

L'estratto risultante è stato diviso in due frazioni; uno per analisi di LC e uno per analisi di GC. I campioni sono stati posizionati su un TurboVap® (Zymark) per rimuovere il solvente organico. Ogni campione è, quindi, stato congelato ed essiccato sotto vuoto. I campioni sono stati poi preparati per LC / MS o per GC / MS a seconda delle caratteristiche biologiche. La variabilità dello strumento è stata del 7% per gli standard interni e la variabilità totale del processo per i biochimici endogeni era del 12%.

La variabilità dello strumento è stata determinata calcolando la deviazione standard relativa mediana (RSD) per gli standard interni che sono stati aggiunti a ciascun

campione prima dell'iniezione negli spettrometri di massa. La variabilità complessiva del processo è stata determinata calcolando l'RSD mediano per tutti i metaboliti endogeni (cioè standard non strumentali) presenti nel 100% dei campioni, che erano repliche tecniche di campioni aggregati.

La parte LC / MS della piattaforma era composta da ACQUITY UPLC Waters e da uno spettrometro di massa LTQ Thermo-Finnigan, a sua volta assemblato con analizzatore di massa sorgente di ionizzazione a elettrospray (ESI) e trappola ionica lineare (LIT). L'estratto del campione è stato diviso in due aliquote, essiccato, quindi ricostituito in solventi acidi o basici compatibili con LC, ognuno dei quali conteneva 11 o più standard di iniezione a concentrazioni fisse. Un'aliquota è stata analizzata usando condizioni ottimizzate di ioni positivi acidi e l'altra usando condizioni ottimizzate di ioni negativi di base in due iniezioni indipendenti usando colonne dedicate separate. Gli estratti ricostituiti in condizioni acide sono stati diluiti a gradiente usando acqua e metanolo contenenti entrambi acido formico allo 0,1%, mentre gli estratti di base, che utilizzavano anche acqua / metanolo, contenevano bicarbonato di ammonio 6,5 mM. L'analisi MS ha alternato scansioni MS e MS dipendenti dai dati usando l'esclusione dinamica.

I campioni destinati all'analisi GC / MS sono stati nuovamente essiccati con una metodica che prevedeva 24 ore prima di permanenza sotto vuoto ed un successivo trattamento con azoto e bis-trimetil-silil-tri-fluoroacetamide (BSTFA). La colonna GC era composta da fenile al 5% e la temperatura saliva da 40 ° a 300 ° C in un periodo di 16 minuti. I campioni sono stati analizzati su uno spettrometro di massa a quadrante singolo a scansione rapida DSQ Thermo-Finnigan utilizzando la ionizzazione elettronica a impatto. Lo strumento è stato sintonizzato e calibrato per la risoluzione e l'accuratezza della massa su base giornaliera.

La parte LC / MS della piattaforma era composta da ACQUITY UPLC Waters e uno spettrometro di massa LTQ-FT Thermo-Finnigan, che aveva un front-end lineare a trappola ionica (LIT) e una risonanza di ciclotrone ionico trasformata di Fourier (FT-ICR) con spettrometro di massa. Per ioni con conteggi superiori a 2 milioni, è stata eseguita una misurazione di massa accurata. Sono state inoltre eseguite misurazioni accurate della massa sullo ione principale e sui frammenti. L'errore di massa tipico era inferiore a 5 ppm. Gli ioni con meno di due milioni di conteggi hanno richiesto uno sforzo maggiore per la caratterizzazione. Gli spettri di frammentazione (MS / MS) erano in genere generati in modo dipendente dai dati, ma se necessario, si è impiegato MS / MS mirati, come nel caso dei segnali di livello inferiore.

#### *2.1.4 Analisi statistica*

A fini descrittivi i dati sono stati presentati, come media con deviazioni standard (SD) o numeri con relativa percentuale sul totale, rispettivamente per variabili continue e categoriali. Il test t a due code di Welch è stato utilizzato per confrontare le differenze tra UI, INV e CTRL. Il software statistico R (versione 3.4.1) è stato utilizzato per eseguire tutte le analisi (R Development Core Team, 2017). Per esaminare tutti i diversi metaboliti contemporaneamente, è stata creata una *heatmap* con i valori dei metaboliti utilizzando il software ClusterVis e una valutazione multivariata con FreeViz. I pathways comuni sono stati analizzati e confrontati utilizzando il software online

MetaboAnalyst (<https://www.metaboanalyst.ca>). L'Ingenuity Pathway Analysis (IPA) è stato utilizzato per il *Drug reproposing* partendo dai metaboliti della cute non lesionale.

Con l' Auto-contractive map (Auto-CM) sono stati clusterizzati i metaboliti che maggiormente rappresentavano la cute psoriasica non lesionale andando a costruire una rete neurale che andasse a distinguere con accuratezza la cute non lesionale di soggetti con psoriasi dalla cute di soggetti sani.

L'algoritmo Auto-CM lavora per steps: a) il trasferimento di segnali dai livelli Input e Hidden; b) assegnazione di valori tra il livello Input e il livello Hidden; c) trasferimento dei segnali dal livello Hidden al livello Output; d) regolazione delle connessioni tra i livelli Hidden e Output.

Una volta assegnati i pesi, l'algoritmo Minimum Spanning Tree (MST) viene utilizzato per rappresentare graficamente la via più breve per collegare le variabili. Tutte le connessioni che generano *hub* vengono rimosse per semplificare la rappresentazione grafica, poiché tutti i sistemi biologici esistono in uno stato di energia minima e il grafico rappresenta solo le informazioni biologiche fondamentali. Questo modello mira in definitiva a rivelare tendenze e associazioni nascoste tra variabili creando connessioni che preservano le associazioni non lineari e le rappresentano visivamente.

Abbiamo raddoppiato le variabili cliniche preselezionate rimodellando il loro range naturale tra 0 ed 1 e dicotomizzando i valori in due classi, Elevato (H) e Diminuito (L). Per ottenere questo risultato abbiamo utilizzato una particolare trasformazione "Low and High" [22].

Il sistema ha, poi, stabilito le relazioni reciproche tra le variabili definite dalla malattia ed i nuovi valori di normalità per ogni variabile. In questo modo le variabili originali sono rivalutate ed assegnate alla categoria "high" o alla categoria "low" a seconda che superino o meno i valori soglia calcolati. Questa dinamica di ridimensionamento rende possibile un confronto proporzionale tra tutte le variabili.

Al fine di valutare il valore predittivo del sottogruppo di metaboliti più strettamente correlato a una diagnosi target (come cute psoriasica non interessata) abbiamo assemblato un set di 15 variabili come input e due variabili (cute non lesionale e cute dei controlli sani) come output. L'algoritmo evolutivo chiamato "Training with Input Selection and Testing" o TWIST è stato impiegato per selezionare le variabili più rappresentative precedentemente ricategorizzate con la trasformazione Low and High.

TWIST utilizza come input il set di dati pre-selezionato (sistema supervisionato), ed utilizzandolo per generare la massima distribuzione ed elaborare i dati in due sottoinsiemi bilanciati, ciascuno contenente una quantità minima di input atta a permettere il riconoscimento di un dato pattern. L'algoritmo TWIST è composto da una popolazione di perceptron multistrato.

A ciascuna ANN vengono "insegnate" le caratteristiche un sottoinsieme del set di dati globale e per poi testare tale ANN in modo cieco su di un altro sottoinsieme. In questo caso, abbiamo modificato TWIST e scambiato la popolazione di perceptron multistrato con una popolazione di semplici valori K Neighbor Neighbor (KNN) usando

metriche euclidee. Questa modifica accelera TWIST e lo polarizza sulla scoperta delle somiglianze esistenti tra gli attributi degli input. TWIST seleziona gli attributi più appropriati nel set originali e crea due sottoinsiemi ottimali per le funzioni di *training* e *testing* di ciascun ANN. Applicando il protocollo *training and testing* al set di dati pre-selezionato in precedenza possiamo, poi, verificare se gli attributi selezionati da TWIST forniscono una buona separazione tra cute non lesionale e controlli sani.

Gli ANNs supervisionati equipaggiati con quattro unità nascoste dotate di un algoritmo di propagazione inversa sono stati addestrati e testati sul set di metaboliti utilizzando il protocollo Leave One Out (LOOP o stima rotazionale).

Il LOOP è un metodo di convalida incrociata che nel quale in ogni epoca vengono inclusi tutti gli attributi tranne 1 che viene "indovinato", questo cambia in ogni epoca fino a raggiunge un plateau d'accuratezza.

Sono stati utilizzati ANNs supervisionati in sinergia con LOOP al fine compensare lo scarso numero di input iniziali (21 biopsie). Il concetto di calcolo della potenza del campionamento non è applicabile per due principali motivazioni: a) natura dello studio (studio pilota) e b) utilizzo i statistica non lineare.

## **2.2 Revisione sistematica della letteratura su malattie autoimmuni e parametri spermatici**

La revisione sistematica della letteratura si è incentrata solo e soltanto sulle anomalie degli spermatozoi e dello sperma in pazienti con psoriasi con e senza trattamento. Si è redatto un protocollo di lavoro che è poi stato registrato sulla piattaforma PROSPERO (<https://www.crd.york.ac.uk/prospero/>) con il numero CRD42019137180.

Gli obiettivi della suddetta erano quelli di a) valutare le evidenze riguardo la presenza di infertilità testicolare da psoriasi non trattata, e b) valutare l'effetto delle terapie biologiche sui parametri spermatici (spermatozoi e liquido seminale) con particolare attenzione per le terapie target.

La stringa di ricerca è stata composta con il linguaggio boyleiano utilizzando i seguenti MeSH terms: "Psoriasis", "Psoriatic arthritis", "Fertility", "Infertility, male", "Spermatozoa". Tale stringa è stata applicata ai seguenti database di settore: PubMed, EMBASE, OVID, Scopus, e Cochrane Library.

La letteratura è stata valutata in modo indipendente da un dermatologo abilitato in Italia (GD) e da un biologo ricercatore specializzato in fertilità maschile (R.F.), in caso di disaccordo in merito all'inclusione di uno studio questo era presentato ad un terzo revisore specializzato in igiene e sanità pubblica (A.B). Sono stati inclusi unicamente articoli originali (original articles, clinical trials e short reports) in lingua inglese ed italiana pubblicati dal 1964 ad oggi (30.12.2020). Le referenze degli articoli inclusi sono state attentamente valutate per verificare che alcuni articoli pertinenti non fossero sfuggiti alla stringa di ricerca.

L'intero processo di selezione degli articoli da includere è stato dettagliatamente riportato con il "PRISMA 2020 flow diagram for new systematic reviews which included



searches of databases, registers and other sources". Gli articoli inclusi sono, poi, stati tabellati per valutarne le caratteristiche principali ed i risultati.

Si è, poi, effettuata una analisi metodologica del rischio di bias con il RoB-2 tool, un metodo Cochrane utilizzabile anche per le revisioni sistemiche.

## **2.3 Valutazione epidemiologica di infertilità maschile e psoriasi in Italia e nel mondo utilizzando le stime del Global Burden of Diseases**

### **2.3.1 Fertilità maschile**

Per la realizzazione del GBD 2019 sono confluiti i dati nazionali ed i subnazionali di Regno Unito, India, Cina e Stati Uniti. In ogni fase del modello, gli effetti delle covariate sono stati derivati da dati empirici osservati da posizioni standard. Ciò ha garantito che le stime derivassero da solide relazioni estrapolate da località con dati empirici più solidi, garantendo così stabilità a lungo termine nelle stime.

Si sono ricercati i dati inerenti le nascite registrate per età della madre, il totale delle nascite registrate ed i trend completi delle nascite nei censimenti, nelle indagini dei siti web governativi, negli annuari statistici e nei compendi demografici. Sono state identificate 439 storie di nascita complete e 628 storie di nascita riassuntive da 938 indagini, 349 censimenti e 238 altre fonti. Sono stati utilizzati 8078 anni di localizzazione di registrazione vitale a livello nazionale e dati di registrazione del campione. Rispetto al GBD 2017, il GBD 2019 ha incorporato 222 fonti aggiuntive composte da 150 indagini, 61 censimenti e 11 altre fonti, nonché 561 anni-località aggiuntivi di registrazione. Si è utilizzata la regressione del processo gaussiano spaziotemporale (ST-GPR) per modellare i tassi di fertilità specifici per età per gruppi di 5 anni di età compresa tra 15 e 49 anni in ciascuna località dal 1950 al 2019. Il livello di istruzione tra le donne per età è stato incluso come covariata, e il tasso di fertilità stimato specifico per età per la fascia di età compresa tra 20 e 24 anni è stato incluso come covariata per tutte le altre età. Il modello include effetti casuali specifici della fonte: dopo aver selezionato una fonte di riferimento per ciascuna località, eventuali altre fonti sono state aggiustate sulla base della differenza negli effetti casuali tra la fonte di riferimento e la fonte di interesse. Per poter incorporare i dati sulle nascite totali e le storie di nascita riassuntive, è stata prima modellata la fertilità specifica per età con dati di registrazione vitali e dati completi sulla storia delle nascite per generare una stima di primo livello della fertilità specifica per età. Questi risultati sono stati utilizzati per incorporare i dati totali sulla nascita e sulla cronologia delle nascite riepilogative in un secondo ciclo finale di stima per ciascuna località. Sono, in fine, state utilizzate le stime di fertilità specifiche per età per estrapolare le stime di fertilità ai gruppi di età 10-14 anni e 50-54 anni.

Per ulteriori dettagli consultare i materiali supplementari Appendix 1 figure S3, Appendix 1 tables S10 ed S11, Appendix 1 (section 3) della pubblicazione di riferimento<sup>18</sup>.

---

<sup>18</sup> GBD 2019 Demographics Collaborators. Global age-sex-specific fertility, mortality, healthy life expectancy (HALE), and population estimates in 204 countries and territories, 1950-2019: a comprehensive demographic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet*. 2020 Oct 17;396(10258):1160-1203.

### 2.3.2 Psoriasi

I dati sul carico di malattia attribuibile alla psoriasi sono stati estratti attraverso il sito web dell'Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME), Università di Washington, Seattle, Washington, USA [<http://ghdx.healthdata.org/gbd-results-tool>]. Le fonti di dati originali utilizzate per le stime del carico imposto dalla psoriasi possono essere ritrovate sul sito web del GBD 2019 Data Input Sources [<http://ghdx.healthdata.org/gbd-2019/data-input-sources>]. Poiché nel GBD 2019 non sono stati utilizzati dati identificabili, una deroga al consenso informato è stata esaminata in modo approfondito e approvata dall'Institutional Review Board (IRB) dell'Università di Washington.

Il GBD 2019 ha riunito diversi dati di input ottenuti da quattro fonti principali, che includono: (i) letteratura accademica disponibile; (ii) varie ampie indagini epidemiologiche a livello nazionale; (iii) dati sui sinistri ottenuti da Stati Uniti, Taiwan, Polonia e Russia; e (iv) dati di cure ambulatoriali/di base dalla Norvegia.

Sono state incluse diverse indagini epidemiologiche: (i) il Medical Expenditure Panel Survey (MEPS) condotto negli Stati Uniti tra il 2000 e il 2009; (ii) l'Australian National Health Survey (ANHS) condotto in diverse ondate successive (dal 1995 al 1996, nel 2001, dal 2004 al 2005 e dal 2007 al 2008); e (iii) il National Health Nutrition Examination Survey (NHANES) degli Stati Uniti condotto nel 2002 e nel 2005. Sono stati utilizzati i dati sulle richieste ottenuti dagli Stati Uniti (fino al 2015-2016) e da Taiwan, nonché dalla Polonia (2015-2017) e dalla Russia (2010-2017), collegando le richieste di più pazienti ospedalizzati e/o ambulatoriali a singoli individui. Questi sono stati estratti come casi prevalenti in caso di uno o più casi di diagnosi ospedaliera/ambulatoriale con un codice ICD correlato alla psoriasi. Il database norvegese delle cure primarie/ambulatoriali conteneva diagnosi legate a individui, che sono stati estratti come casi prevalenti. In sintesi, sono state utilizzate 8 fonti per calcolare l'incidenza della psoriasi (da quattro paesi contributori) e 123 fonti per calcolare la prevalenza della psoriasi (da 31 paesi contributori), mentre 15 fonti aggiuntive (da un paese contributore) sono state utilizzate per valutare quantitativamente la percentuale di psoriasi. casi e calcolare il tasso di prevalenza. Complessivamente, nella presente indagine sono state utilizzate 132 fonti di dati uniche (provenienti da 31 paesi contributori). Le fonti di dati dettagliate utilizzate per stimare e calcolare il peso della psoriasi nei diversi paesi possono essere trovate accedendo allo strumento GBD 2019 Data Input Sources Tool al seguente link: <http://ghdx.healthdata.org/gbd-2019/data-fonti-di-input5>.

Secondo la metodologia GBD, i dati dei pazienti ambulatoriali provenienti da strutture sanitarie con sede negli Stati Uniti e in Svezia erano potenzialmente ammissibili. Tuttavia, dopo una valutazione approfondita, non è stato possibile includerli nella presente indagine a causa della violazione di modelli regionali ben consolidati e delle tendenze di distribuzione legate all'età.

I dati conservati sono stati successivamente rivalutati in termini di presenza di valori anomali (valori elevati nei gruppi di età più giovani), la cui inclusione avrebbe comportato uno scarso adattamento del modello o una significativa distorsione/sovrastima degli pseudo-dati subnazionali. Inoltre, sono stati esclusi i dati

ritenuti incoerenti rispetto ai trend tariffari regionali, superregionali e globali. Nessuna di queste ultime violazioni è stata rilevata durante la valutazione della qualità dei dati.

Sono stati calcolati diversi indicatori di parametri sanitari, tra cui la prevalenza, l'incidenza e le stime relative alla disabilità. Più nel dettaglio, i dati di incidenza e prevalenza relativi a diagnosi accertate come casi di psoriasi ed estratti dalle fonti dati precedentemente descritte (database amministrativi, studi basati su esame fisico) sono stati utilizzati come input e inseriti nel Disease Modeling—Meta-regression (DisMod-MR) 2.1, uno strumento di meta-regressione bayesiana, per stimare i parametri epidemiologici per età [23 gruppi di età: (i) neonatale precoce, (ii) neonatale tardivo, (iii) post-neonatale, (iv) 1–4, (v) 5–9, (vi) 10–14, (vii) 15–19, (viii) 20–24, (ix) 25–29, (x) 30–34, (xi) 35–39, (xii) 40–44, (xiii) 45–49, (xiv) 50–54, (xv) 55–59, (xvi) 60–64, (xvii) 65–69, (xviii) 70–74, (xix) 75–79, (xx) 8–84, (xxi) 8–89, (xxii) 90–94 e (xxiii) 95+ anni], sesso (maschio, femmina e maschio/femmina insieme), anno (dal 1990 al 2019) e geografia (in termini di superregioni, regioni, paesi e territori).

Invece di DisMod-MR, è stato utilizzato un altro approccio biostatistico denominato Meta-Regression—Bayesian Regularized Trimmed (MR-BRT) per elaborare i dati del Marketscan statunitense, insieme alla diagnosi di artrite reumatoide estratta dai dati amministrativi, adattandoli al livello di altra prevalenza dati ritenuti più rappresentativi della popolazione generale. Sono stati estratti anche i dati relativi all'artrite reumatoide poiché la diagnosi differenziale della malattia psoriasica comprende l'artrite reumatoide. Per quanto riguarda la strategia di modellazione, gli intervalli di remissione della psoriasi e di durata sono stati fissati rispettivamente a 0,05-0,15 e 6,6-20 anni, sulla base delle attuali conoscenze dell'epidemiologia correlata alla psoriasi, del consenso delle opinioni di esperti, della letteratura scientifica esistente e del GBD precedentemente pubblicato studi. L'eccesso di mortalità dovuto alla psoriasi è stato misurato in anni di vita persi e assunto pari a zero. I dati raccolti e compilati hanno generato un database abbastanza grande da garantire la possibilità di utilizzare intervalli di tempo relativamente brevi (finestre di 10 anni) per calcolare la bontà di adattamento dei punti dati. Sono state utilizzate covariate a livello di studio (comprese le principali caratteristiche delle popolazioni oggetto di studio, come età o sesso) per contrassegnare i dati estratti dalle auto-segnalazioni, dalle cure ambulatoriali/primarie e dai dati sulle richieste di risarcimento. Dall'analisi di aggiustamento del cross-walk MR-BRT, impostando il parametro gamma a 0,63, il coefficiente beta (logit) per gli studi senza esame fisico è stato calcolato a -0,12 (compreso tra -1,36 e 1,12), per gli studi che utilizzano USA Marketscan 2000 dati a -1,23 (compresi tra -2,50 e -0,01), per gli studi che utilizzano i dati USA Marketscan 2010-2016 a -0,82 (da -2,06 a 0,43) e per studi con diagnosi di artrite reumatoide (RA) ottenuta da dati amministrativi a -0,87 (compreso tra -2,12 e 0,37). I corrispondenti fattori di aggiustamento correlati hanno prodotto rispettivamente 0,47, 0,22, 0,31 e 0,29.

L'indice socio-demografico (SDI) e il valore assoluto della latitudine media sono serviti come covariate a livello di località (a livello di paese) per informare la stima delle variabili per paesi e territori con carenza di dati. I valori beta esponenziati (che possono essere intesi come rapporti di probabilità, OR) sono stati calcolati a 0,19 (compreso tra 0,17 e 0,20) e 1,01 (compreso tra 1,01 e 1,01) rispettivamente per SDI e il valore assoluto della latitudine media.

Le stime di prevalenza sono state moltiplicate per un moltiplicatore noto come il peso della disabilità (DW), calcolato da indagini epidemiologiche su tutta la popolazione e da uno studio basato sul web ad accesso aperto, per ottenere anni vissuti con disabilità (YLD) e anni di vita aggiustati per disabilità (DALY). Quest'ultimo indicatore combina in un'unica misura il tempo vissuto con la disabilità e il tempo perso a causa della mortalità prematura. È stata condotta un'analisi di suddivisione della gravità con i DW, in base al tipo e all'entità delle sequele (valutate come conseguenze funzionali e sintomi dello stadio della malattia) (22). In altre parole, come fatto in precedenti studi sulla GBD, diversi DW per la psoriasi sono stati assegnati in base al grado di deturpazione con prurito/dolore (livelli di gravità 1, 2 e 3).

Nel caso della psoriasi lieve, il soggetto riferisce una lieve, anche se visibile, deformità fisica, che può essere dolore e/o prurito, oltre a provocare disagio psicologico. In questo caso, DW è 0,027 (compreso tra 0,015 e 0,042). Nel caso della psoriasi grave, l'individuo presenta una deformità fisica evidente, molto dolorosa e pruriginosa, che provoca disagio psicologico, preoccupazioni, scarsa qualità del sonno, evitamento dei contatti sociali e pensieri suicidi. In questo caso, DW è 0,576 (compreso tra 0,401 e 0,731). Il caso intermedio di psoriasi moderata è caratterizzato da disturbi del sonno e della concentrazione. In questo caso, DW è 0,188 (compreso tra 0,124 e 0,267).

Sono state generate e stimate misure a livello globale, regionale e nazionale, sia per gli indicatori epidemiologici (incidenza e prevalenza) che per quelli di disabilità (YLD e DALY) dovuti alla malattia psoriasica. Tutte le misure sono state riportate come numeri assoluti (conteggi) e relativi (percentuali), sia come tassi grezzi che aggiustati per età per 100.000 persone, dove è stata applicata la procedura di standardizzazione per età basata sulla struttura per età della popolazione mondiale dell'OMS. Tutte le stime sono state riportate con i loro intervalli di incertezza del 95% (95% UI). Questi intervalli sono stati stimati prelevando 1.000 campioni dalla distribuzione a posteriori di ciascuna quantità e utilizzando le rappresentazioni del 25° e 97,5° ordine della distribuzione dell'incertezza. Le UI sono diverse dagli IC "classici", poiché consentono di acquisire e modellare l'incertezza da più passaggi (come la stima del modello e i passaggi di specifica dei parametri), incorporando diverse fonti di dati anche altamente eterogenee. Si tratta di un notevole progresso metodologico che garantisce robustezza e affidabilità delle stime, rispetto alle tecniche "convenzionali" che si basano esclusivamente sull'errore di campionamento.

Anche le stime degli indicatori epidemiologici e di disabilità vengono presentate stratificate a livello di località/paese. All'interno del quadro metodologico GBD, i paesi sono classificati sulla base di una misurazione oggettiva del loro stato di sviluppo, vale a dire l'ISD. Si tratta di una metrica composita, che combina e riassume varie variabili, tra cui reddito medio, livello di istruzione e tasso di fertilità totale (TFR) sotto i 25 anni di età. Sulla base di questo calcolo, l'SDI viene calcolato e assegnato a ciascun paese (24). L'SDI è scalato da zero, che rappresenta il reddito più basso, il rendimento scolastico e il TFR più alto possibile, a uno che, al contrario, rappresenta il reddito, il rendimento scolastico più alto e il TFR più basso possibile. È stata condotta ed è presentata qui la relazione tra i tassi epidemiologici e di disabilità e lo stato di SDI (categorizzati come paesi alto, medio-alto, medio, medio-basso e basso SDI).

Il nostro presente studio riporta i risultati in conformità con la dichiarazione GATHER (Linee guida per la segnalazione di stime sanitarie accurate e trasparenti).

Per ulteriori dettagli rifarsi alla pubblicazione relativa<sup>19</sup>.

## **2.4 Studio di associazione genome-wide tra psoriasi e infertilità maschile**

Per valutare l'esistenza di eventuali polimorfismi in grado di aumentare il rischio di infertilità maschile nei pazienti con psoriasi è stato effettuato uno studio di genome-wide association (GWAS) incentrato unicamente sui geni dell'IL-17, IL-17R, IL-23 e IL-23R. È stata utilizzata la piattaforma NHGRI-EBI Catalog, ricercati i due disordini, rimosse le varianti che non rientravano nell'equilibrio di Hardy-Weinberg. In conseguenza del fenotipo binario (presenza/assenza di malattia) è stata utilizzata la regressione logistica ed è stato valutato il false discovery rate<sup>20</sup>.

## **2.5 Revisione delle linee guida sul trattamento sistemico della psoriasi e redazione del consensus italiano ed internazionale sul metotressato**

Sono state ricercate tutte le linee guida per la psoriasi dal 1990 alla ricerca di una menzione sulla fertilità maschile in termini di tossicità da farmaco, conta e motilità degli spermatozoi o liquido seminale.

Dopo una fase di screening della letteratura sono stati identificati 23 quesiti per l'utilizzo di metotressato nella pratica clinica in dermatologia. Tali quesiti erano raggruppabili in 6 aree di trattamento: 1), tra cui: (1) esami pre-screening e monitoraggio della terapia (9 quesiti); (2) dosaggio e somministrazione in pazienti naïve al MTX (5 a quesiti); (3) strategia ottimale per i pazienti in remissione (2 quesiti); (4) uso di acido folico (1 quesiti); (5) sicurezza (3 quesiti); (6) predittori di tossicità ed efficacia (3 quesiti). Nel contesto dell'area tematica della sicurezza è stata posta una domanda sulla fertilità maschile ed il farmaco:

“Quali precauzioni dovrebbero essere prese nei pazienti con psoriasi e desiderio di paternità in trattamento con MTX?”

I 23 quesiti sono andati incontro ad un processo eDelphi strutturato su 3 round (I round: febbraio-giugno 2021, II round: Settembre 2021, III round: ottobre 2021) che hanno portato all'approvazione di tutti e 23 i quesiti clinici.

Per ulteriori informazioni consultare la pubblicazione in originale nella sezione Materiali e Metodi<sup>21</sup>.

---

<sup>19</sup> Damiani G, Bragazzi NL, Karimkhani Aksut C, Wu D, Alicandro G, McGonagle D, Guo C, Dellavalle R, Grada A, Wong P, La Vecchia C, Tam LS, Cooper KD, Naghavi M. The Global, Regional, and National Burden of Psoriasis: Results and Insights From the Global Burden of Disease 2019 Study. *Front Med (Lausanne)*. 2021 Dec 16;8:743180.

<sup>20</sup> Brzyski D, Peterson CB, Sobczyk P, Candès EJ, Bogdan M, Sabatti C. Controlling the Rate of GWAS False Discoveries. *Genetics*. 2017 Jan;205(1):61-75.

<sup>21</sup> Damiani G, Amerio P, Bardazzi F, Carrera CG, Conti A, Cusano F, Dapavo P, DeSimone C, El Hachem M, Fabbrocini G, Gisondi P, Loconsole F, Micali G, Neri I, Parodi A, Piaserico S, Romanelli M, Stingeni L; METHOD study working group; Pigatto PDM. Real-World Experience of Methotrexate in the Treatment of Skin Diseases: an Italian Delphi Consensus. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2023 Jun;13(6):1219-1241.

La medesima metodologia è stata utilizzata per redigere il consensus internazionale sull'utilizzo clinico del metotressato in dermatologia. La progettualità è stata presentata dalla Prof. Astrid van Huizen del Dipartimento di Dermatologia dell'Università di Amsterdam che ha condotto lo studio eDelphi per raggiungere un consenso internazionale sul dosaggio del metotressato per il trattamento dei pazienti con malattia psoriasica.

Lo studio consisteva in 3 cicli di sondaggi sequenziali (eDelphi) condotti a settembre 2020, novembre 2020 e febbraio 2021. Un incontro di consenso online si è svolto dopo l'ultimo ciclo di sondaggi nel giugno 2021.

Sono stati invitati a partecipare un totale di 4.500 membri dello Skin Inflammation and Psoriasis International Network (SPIN). Ulteriori e-mail sono state inviate a 108 rappresentanti nazionali e a 35 membri del comitato scientifico della rete.

Il mio coinvolgimento è stato in tutti e tre i rounds di votazione.

Per ulteriori dettagli consultare la pubblicazione di riferimento<sup>22</sup>.

## **2.6 Comorbidoma dei pazienti con psoriasi che sviluppano infertilità maschile utilizzando il CLALIT database<sup>23</sup>**

CLALIT, è la più grande delle quattro organizzazioni di servizi sanitari israeliani su mandato statale, incaricata di amministrare i servizi sanitari e di finanziare i suoi membri. Ampiamente conosciuta come Kupat Holim Clalit, è stata fondata nel 1911 come società di mutuo soccorso.

Ad oggi conta 14 ospedali, 1300 primary cares e 42.000 dipendenti che forniscono servizi sanitari a 4.6 (49.12%) milioni di persone in Israele.

L'archivio elettronico di Clalit Health Services è considerato, per capillarità di informazione e rappresentatività, uno dei migliori al mondo per valutare epidemiologicamente associazioni tra patologie, correlazioni con fattori di rischio, ma anche come trainer di modelli predittivi con il machine learning.

Per accedere ai singoli dati depersonalizzati è stato stilato un modulo di Transfer Agreement che ha permesso di acquisire tutti i dati dei pazienti con psoriasi del database, appaiati 1:1 per sesso ed età con dei controlli.

L'obiettivo di questa analisi è stato quello di comprendere meglio la complessità non lineare delle interazioni biologiche esistenti tra le diverse comorbilità in pazienti con psoriasi, l'intero database è stato preliminarmente analizzato anche con un sistema un sistema di Artificial Neural Network unsupervised di quarta generazione (AutoCM, Semeion©, Roma). L'analisi è stata svolta in un primo momento non includendo le date di diagnosi delle comorbilità e successivamente includendole per tracciare gli endotipi.

---

<sup>22</sup> van Huizen AM, -Damiani G, -Veldkamp W. International eDelphi Study to Reach Consensus on the Methotrexate Dosing Regimen in Patients With Psoriasis. JAMA Dermatol. 2022 May 1;158(5):561-572.

<sup>23</sup> Lo Human Investigation Committee (IRB) dell'Università di Ben-Gurion di Beersheba in Israel ha approvato lo studio e ne ha garantito l'esenzione dalla richiesta di consenso informato.

Successivamente I tassi di prevalenza per ciascuna morbilità preesistente sono stati calcolati come percentuali insieme ai relativi intervalli di confidenza binomiale al 95% per le proporzioni. Le differenze nella prevalenza della comorbilità tra i gruppi caso e controllo sono state quindi valutate con uno Z-test a due proporzioni. È stata eseguita una regressione logistica univariata per valutare l'odds ratio (OR) per ciascuna comorbilità nei soggetti psoriasici rispetto ai soggetti non psoriasici. I risultati sono stati considerati statisticamente significativi a 0,001, che tiene conto dei molteplici test eseguiti.

È stato quindi tracciato il comorbidoma, rappresentando graficamente tutte le comorbilità che avevano un'associazione statisticamente significativa con l'insorgenza di PsO ( $p < 0,001$ ). La dimensione di ciascuna bolla è proporzionale alla prevalenza della malattia nella coorte psoriasica, mentre la vicinanza al centro (psoriasi) esprime la forza dell'associazione tra comorbilità e diagnosi PsO [questo è stato ottenuto numericamente come l'inverso dell'OR ( $1/OR$ )]. Tutti i cerchi relativi a una malattia con una maggiore incidenza nel gruppo psoriasico rientrano nell'orbita tratteggiata ( $1/OR < 1$ ), mentre le morbilità con una prevalenza ridotta sono all'esterno ( $1/OR > 1$ ).

Tale comorbidoma è stato poi calcolato per i pazienti che dopo la diagnosi di psoriasi andavano a sviluppare infertilità maschile.

R 4.0.4 è stato utilizzato per condurre analisi statistiche. La preparazione e la visualizzazione dei dati sono state eseguite in Python 3.8.8.

## **2.7 Survey sui pazienti che in terapia biologica con desiderio di paternità<sup>24,25</sup>**

Nel contesto dell'accordo di partenariato con validità quinquennale approvato in data 16.11.2021 tra Il Dipartimento di Scienze Umane e Sociali dell'Università degli Studi di Bergamo, il Dipartimento di Dipartimento di Scienze Biomediche, Chirurgiche ed Odontoiatriche dell'Università degli Studi di Milano e l'IRCCS Istituto Ortopedico Galeazzi Spa.

Preliminarmente ho costruito con uno psicologo clinico (A.B) un questionario di 12 domande basato sulla scala psicometrica di Linkert avente tre domini (conoscenza, attitudine e pratica) di 4 domande cadauno. L'attendibilità del questionario è stata valutata ottimale con l'alfa di Cronbach e poi somministrato a 70 pazienti con psoriasi dai 30 ai 60 anni.

## **2.8 Survey telefonico nei centri di fertilità italiani sull'argomento farmaci della psoriasi e PMA**

La survey telefonica è stata strutturata su 6 domande:

---

<sup>24</sup> La survey è stata condotta nel contesto dello studio approvato dal CE dell'Ospedale San Raffaele in data 10.11.2021 con numero di protocollo 178/int/2021.

<sup>25</sup> I punti 2.7 e 2.8 sono stati finanziati da una erogazione liberale di Novartis Farma S.p.a. nel Novembre 2020 a sostegno del progetto: Psoriasi e fertilità: consigli per l'uomo in età fertile.

- 1) Ritiene che la psoriasi sia una controindicazione relativa o assoluta alla fecondazione in vitro ed estrazione dei gameti?
- 2) Ritiene che la terapia NB\_UVB per la psoriasi sia una controindicazione relativa o assoluta alla fecondazione in vitro ed estrazione dei gameti?
- 3) Ritiene che la terapia con acitretina, Metotressato o ciclosporina per la psoriasi sia una controindicazione relativa o assoluta alla fecondazione in vitro ed estrazione dei gameti?
- 4) Ritiene che la terapia con farmaci biologici (anti-TNF, anti-IL23, anti-IL17) per la psoriasi sia una controindicazione relativa o assoluta alla fecondazione in vitro ed estrazione dei gameti?
- 5) Ritiene che la terapia con small molecules (apremilast e acido fumarico) per la psoriasi sia una controindicazione relativa o assoluta alla fecondazione in vitro ed estrazione dei gameti?
- 6) Consiglierebbe di interrompere il trattamento per la psoriasi al fine di migliorare le possibilità di successo della FIVET o della conservazione dei gameti?

Tale survey è stata amministrata telefonicamente a tutti i 326 centri per PMA recensiti dall'Istituto Superiore di Sanità Italiano.

## **2.9 Spermogramma e DNA fragmentation in pazienti naïve per trattamento sistemico**

Sono stati arruolati 11 pazienti normospermici<sup>26</sup> di sesso maschile con desiderio di paternità candidati ad una terapia biologica (PASi>10) che volevano valutare la loro idoneità ad una procedura di PMA. In ottemperanza ai protocolli vigenti, tali soggetti hanno svolto la conta spermatica, il test di motilità e la DNA fragmentation con tecnica di Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA®)<sup>27</sup>.

Tali test di fertilità sono avvenuti prima della destinazione del paziente ad una terapia con farmaco sistemico e dopo l'astensione di 4 settimane dall'utilizzo di topici contenenti steroidi ed inibitori della calcineurina.

## **2.10 Correlazione tra caratteristiche cristallografiche degli epitopi riconosciuti dagli IL-23i ed efficacia (short- e long-term)**

### *2.10.1 Analisi dell'epitopo IL-23*

---

<sup>26</sup> Si definisce normale, ovvero normospermico un campione di liquido seminale i cui parametri presentano i seguenti valori: volume  $\geq 5$  ml, pH  $\geq 2$ , Fluidificazione completa, viscosità assente, aspetto grigio opalescente. Concentrazione di spermatozoi  $\geq 15$  mil/ml, Numero totale di spermatozoi  $\geq 39$  mil/ml, Motilità progressiva (%):  $\geq 32\%$ , Morfologia (%):  $\geq 4\%$  di forme normali (valori considerati di riferimento nel laboratorio utilizzato).

<sup>27</sup> Evenson DP. Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA®) for Fertility Assessment. Curr Protoc. 2022 Aug;2(8):e508.



Sono stati analizzati i dati inerenti gli epitopi derivati principalmente da studi sullo scambio idrogeno-deuterio per risankizumab<sup>28</sup>, tildrakizumab<sup>29</sup> e guselkumab<sup>30</sup> e dati cristallografici per ustekinumab<sup>31</sup> per mappare le posizioni degli epitopi, l'idrofobicità e la carica superficiale sulla superficie della struttura cristallina dell'IL-23 (Protein Data Bank (PDB) ID Code 3D87)<sup>32</sup> utilizzando UCSF Chimera<sup>33</sup>. PDBePISA è stato utilizzato per calcolare SASA. I caratteri totali dell'epitopo sono stati determinati classificando ciascun residuo epitopico come acido (D, E), basico (R, K), polare (Q, N, H, S, T, Y, C, G) o idrofobo (A, I, L, F, V, P, M, W) e calcolando il contributo totale di ciascun gruppo all'epitopo SASA.

Per studiare gli epitopi sono state utilizzate le conformazioni quaternarie in cristallografie, pertanto i limiti della risoluzione cristallografica rimangono presenti, ma contrariamente alla conformazione primaria permettono una valutazione delle sequenze d'attacco più rispettosa della dinamica molecolare.

### *2.10.2 Correlazione delle proprietà dell'epitopo inibitorio con l'affinità di legame, la cinetica e la risposta clinica*

Le proprietà molecolari di ciascun epitopo (cioè l'area superficiale) sono state correlate all'affinità di legame e alla cinetica precedentemente riportate, nonché all'efficacia clinica nella psoriasi a placche tramite analisi di regressione lineare. In breve, i dati sul tasso di risposta PASI-90 a breve e lungo termine sono stati derivati dal riferimento<sup>34</sup>, mentre la costante di dissociazione all'equilibrio dell'inibitore (KD), la costante del tasso di dissociazione (koff) e la costante del tasso di associazione (kon) sono state derivate dal riferimento<sup>14</sup>.

### *2.10.3 Analisi statistica*

Tutte le analisi statistiche (analisi di regressione lineare) e il grafico dei dati sono stati eseguiti utilizzando PRISM 9 (GraphPad Software, Inc.) con significatività fissata a  $P \leq 0,05$ .

## **2.11 Studio genome-wide dei polimorfismi della subunità p19 dell'IL-23 e dei relativi epitopi riconosciuti dagli IL-23i in commercio**

Ho personalmente quantificato i *primary failure* all'IL-23 inibitore con uno studio multicentrico italiano avvalendomi del database LANDSCAPE. Notando che i *primary failure* erano dell'ordine di 1:200 ho voluto studiare i polimorfismi della subunità p19

---

<sup>28</sup> Singh S, Kroe-Barrett RR, Canada KA, Zhu X, Sepulveda E, Wu H, et al. Selective targeting of the IL23 pathway: Generation and characterization of a novel high-affinity humanized anti-IL23A antibody. *MAbs*. 2015;7(4):778-91

<sup>29</sup> Presta LG, inventor Engineered anti-IL-23P19 antibodies patent 8,293,883 B2 2012.

<sup>30</sup> Zhou L, Wang Y, Wan Q, Wu F, Barbon J, Dunstan R, et al. A non-clinical comparative study of IL-23 antibodies in psoriasis. *MAbs*. 2021;13(1):1964420

<sup>31</sup> Luo J, Wu SJ, Lacy ER, Orlovsky Y, Baker A, Teplyakov A, et al. Structural basis for the dual recognition of IL-12 and IL-23 by ustekinumab. *J Mol Biol*. 2010;402(5):797-812.

<sup>32</sup> Beyer BM, Ingram R, Ramanathan L, Reichert P, Le HV, Madison V, et al. Crystal structures of the pro-inflammatory cytokine interleukin-23 and its complex with a high-affinity neutralizing antibody. *J Mol Biol*. 2008;382(4):942-55.

<sup>33</sup> Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, et al. UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis. *J Comput Chem*. 2004;25(13):1605-12.

<sup>34</sup> Armstrong AW, Puig L, Joshi A, Skup M, Williams D, Li J, et al. Comparison of Biologics and Oral Treatments for Plaque Psoriasis: A Meta-analysis. *JAMA Dermatol*. 2020;156(3):258-69

dell'IL-23 contenuti nel GWAS per valutare se queste varianti coinvolgessero o meno l'epitopo riconosciuto dai principali IL-23 inibitori in commercio in Italia.

Le varianti risultanti sono state suddivise in :

- non riguardanti gli epitopi
- riguardanti gli epitopi ma sinonime
- riguardanti gli epitopi non sinonime.

Le varianti non sinonime sono state studiate e rappresentate con un diagramma di Venn per identificare eventuali varianti che potessero cambiare il sito d'attacco di uno o più farmaci.

L'indagine è stata condotta in collaborazione con il Dottor Mauro Pala dell' IRGB SASSARI CNR.

## **2.12 Analisi del database VigiBase per la valutazione della potenziale disfunzione erettile indotta dagli inibitori IL-12/IL-23, IL-23, IL-17 e IL-17R.**

Avendo stabilito e spiegato da un punto di vista cristallografico i determinanti dell'efficacia short e long- term intraclasse dei farmaci IL-23 inibitori, si è voluto indagare una potenziale disfunzione erettile farmaco-indotta da parte di questi farmaci.

Pertanto è stata redatta l'application per accedere al registro VigiBase. VigiBase viene utilizzato per identificare nuovi problemi correlati ai farmaci e per acquisire conoscenze sulle caratteristiche specifiche delle reazioni avverse ai farmaci (ADR), come il tempo di insorgenza, il decorso dell'evento e l'esito. VigiBase viene utilizzato anche come fonte di riferimento nelle valutazioni di farmaci specifici e/o reazioni avverse<sup>35</sup>. Gli utenti principali di VigiBase sono i centri nazionali di farmacovigilanza e l'UMC (Uppsala Monitoring Centre). Altre parti interessate che desiderano utilizzare i dati in VigiBase a beneficio della salute pubblica e per scopi in armonia con lo scopo del PIDM (Programme for International Drug Monitoring) dell'OMS possono accedere al livello pubblico dei dati, liberamente disponibili su [www.vigiaccess.org](http://www.vigiaccess.org), o su richiesta attraverso una ricerca personalizzata o il set di dati completo a livello di caso di estrazione VigiBase.

---

<sup>35</sup> Lindquist M. VigiBase, the WHO Global ICSR Database System: Basic Facts. *Drug Inf J.* 2008;42(5):409-19.

Lindquist M. Data quality management in pharmacovigilance. *Drug Saf.* 2004;27(12):857-70.  
Bergvall T, Norén GN, Lindquist M. vigiGrade: a tool to identify well-documented individual case reports and highlight systematic data quality issues. *Drug Saf.* 2014;37:65-77.

Norén GN, Orre R, Bate A, et al. Duplicate detection in adverse drug reaction surveillance. *Data Min Knowl Discov* 2007;14:305-28.

Tregunno PM, Fink DB, Fernandez-Fernandez C, et al. Performance of probabilistic method to detect duplicate individual case safety reports. *Drug Saf* 2014;37:249-58.

Utilizzando i *search criteria* riportati in tabella 1 è stato creato un database che analizzava il link tra farmaco ed effetto avverso riportato caratterizzandolo con 3 grandezze:

1 Odds Ratio

2 Proportional Reporting Ratio

3 Information Component

**Tabella 1.** Criteri di ricerca utilizzati nell'archivio Vigibase.

SEARCH CRITERIA	
SUBSTANCE:	Ustekinumab, ixekizumab, guselkumab, secukinumab, Risankizumab, brodalumab, tildrakizumab <i>No fixed combination products exist for these substances</i>
DRUG INVOLVEMENT:	Suspected/Interacting/Concomitant <i>Please note that some drugs noted as concomitant may actually reflect past medical history</i>
TERMINOLOGY:	MedDRA
REACTIONS:	PT:s from the SOC:s Reproductive system and breast disorders, Pregnancy, puerperium and perinatal conditions
COUNTRY:	All
YEARS:	All
OTHER:	None
DE-DUPLICATED DATASET?:	Y
OUTPUT FORMAT:	Summary All Disproportionality search

### 2.13 Valutazione della frammentazione del DNA spermatico pre e post trattamento con risankizumab<sup>36</sup>

A fronte dei risultati ottenuti dalle analisi dei punti 2.10, 2.11 e 2.12 è stato somministrato il risankizumab ai pazienti con psoriasi grave che si erano sottoposti a DFI ed avevano ottenuto risultati non accettabili (DFI >30%). Per fornire una indicazione concreta al centro di PMA a cui i pazienti si erano rivolti, è stato ripetuta l'analisi del DFI a 16 settimane, *timepoint* coerente con la spermatogenesi e con la valutazione di un eventuale *primary failure*.

### 2.14 Creazione di una proposta di PDTA incentrato su psoriasi moderata-grave e desiderio di paternità

Da un'attenta valutazione dei Percorsi Diagnostici Terapeutici Assistenziali (PDTA) incentrati sulla psoriasi redatti da Società scientifiche (dermatologiche e non), Associazioni pazienti e Regioni è emerso che, contrariamente alla fertilità femminile ed alla gravidanza, l'attenzione per il desiderio di paternità e la salvaguardia della fertilità maschile non è presente. Considerato che il *referral* dal territorio (medici di

<sup>36</sup> La valutazione è stata effettuata per ragioni cliniche di monitoraggio e nel contesto dello studio approvato dal CE dell'Ospedale San Raffaele in data 10.11.2021 con numero di protocollo 178/int/2021.

base, continuità assistenziale e dermatologi territoriali) è in netto aumento, il numero di pazienti under 50 con desiderio di paternità e psoriasi moderata grave (PASI>10) sta aumentando.

Pertanto il dermatologo che segue le linee guida nazionali ed europee, in ottemperanza degli effetti indesiderati riportati sul libretto illustrativo dei farmaci, dovrà necessariamente scartare il metotressato e l'acitretina. Sui restanti farmaci non vi sono ad ora evidenze solide pubblicate (fino al 2020)<sup>37</sup>, quindi il clinico prescrive una terapia (NB-UVB, small molecules o biologici) senza tenere conto della variabile "desiderio di paternità". Alla luce delle nuove acquisizioni in letteratura, la costituzione di un PDTA che definisca un *ranking* farmacologico, standardizzi l'approccio multidisciplinare a questa categoria di pazienti.

Per costituire un PDTA idoneo allo scopo è stato utilizzato il metodo C.o.P.<sup>38</sup> che supporta i percorsi clinici e/o assistenziali attraverso un processo strutturato e guidato di valutazione della qualità e della sicurezza dell'agire legato alla pratica clinica. Tale criterio si basa su sette gruppi di requisiti:

- Requisiti generali (GEN);
- Requisiti nella definizione, strutturazione e valutazione del percorso di cura (PDC);
- Requisiti in termini di condizioni organizzative da realizzarsi per la gestione del percorso di cura (SO);
- Requisiti in termini di engagement del paziente (CPF);
- Requisiti in termini di gestione della documentazione clinica e di valutazione del percorso attraverso l'utilizzo dei dati (DAT);
- Requisiti in termini di definizione, implementazione e monitoraggio di indicatori di *performances* che consentano di valutare il percorso (IND);
- Requisiti in termini di progettazione ed implementazione del programma di miglioramento (QUA).

I gruppi sopraelencati si declinano in 48 requisiti specifici:

- GEN\_1: Corretta identificazione del paziente
- GEN\_2: Corretta comunicazione
- GEN\_3: Riduzione rischio infezioni
- GEN\_4: Prevenzioni cadute
  
- GEN\_5: Corretta gestione del farmaco
- GEN\_6: Riconciliazione terapeutica
- GEN\_7: Corretta gestione LASA e farmaci ad alto rischio
- GEN\_8: Corretta gestione delle soluzioni concentrate
- GEN\_9: Prevenzione delle reazioni a trasfusione
- GEN\_10: Corretta identificazione del sito chirurgico e time-out

---

<sup>37</sup> Finelli R, Leisegang K, Finocchi F, De Masi S, Agarwal A, Damiani G. The impact of autoimmune systemic inflammation and associated medications on male reproductive health in patients with chronic rheumatological, dermatological, and gastroenterological diseases: A systematic review. *Am J Reprod Immunol.* 2021 May;85(5):e13389.

<sup>38</sup> Faini M, Toreggiani A. I requisiti C.O.P. per la certificazione dei percorsi di cura. Progea S.r.l. - Milano e T&C S.r.l. - Milano, Opera depositata n° 2018001849 – 18/07/2018

- GEN\_11: Prevenzione della ritenzione di materiale nel sito chirurgico
  - GEN\_12: Reclami e segnalazioni
  - GEN\_13: Programma per la gestione dell'emergenza
  - GEN\_14: Programma per la gestione della sicurezza
  - GEN\_15: Prevenzione di atti di violenza ai danni degli operatori
  - GEN\_16: Prevenzione suicidio dei pazienti
- 
- PDC\_1: Utilizzo di Linee guida e protocolli clinico/assistenziali
  - PDC\_2: Il percorso è strutturato
  - PDC\_3: Standardizzazione dei codici
  - PDC\_4: Sono definiti e formalizzati i criteri di arruolamento dei pazienti nel percorso di cura
  - PDC\_5: Esiste una valutazione continua del percorso di cura
  - PDC\_6: Il personale conosce ed adotta le linee guida
  - PDC\_7: Il percorso è strutturato e attivato con il coinvolgimento di tutti
- 
- SO\_1: Si raccolgono informazioni sul paziente
  - SO\_2: I bisogni del paziente vengono valutati
  - SO\_3: Per soddisfare i bisogni del paziente vengono utilizzate le informazioni disponibili
  - SO\_4: È garantita la continuità assistenziale anche per le prestazioni non direttamente gestite
  - SO\_5: Il personale è qualificato
  - SO\_6: Sono definiti i ruoli e le responsabilità
  - SO\_7: È garantita una gestione efficace ed efficiente dei professionisti
- 
- CPF\_1: Pazienti e familiari vengono coinvolti nel percorso di cura
  - CPF\_2: Si valutano le capacità di apprendimento del paziente
  - CPF\_3: Il paziente dispone di materiali informativi comprensibili e coerenti
  - CPF\_4: Si promuovono i corretti stili di vita
- 
- DAT\_1: Si proteggono la riservatezza e la privacy del paziente
  - DAT\_2: Consenso informato
  - DAT\_3: Per ogni paziente è disponibile un fascicolo personale
  - DAT\_4: Condivisione delle informazioni per la continuità assistenziale
  - DAT\_5: È definito chi può accedere alla documentazione clinica
  - DAT\_6: I dati raccolti sono attendibili
  - DAT\_7: Si utilizzano i dati per decidere

- IND\_1: Si valutano gli outcome con l'utilizzo di dati
- IND\_2: Gli eventi sentinella, avversi e i near miss sono tracciati e gestiti
- IND\_3: Si verificano le divergenze dalle linee guida
- IND\_4: Customer satisfaction

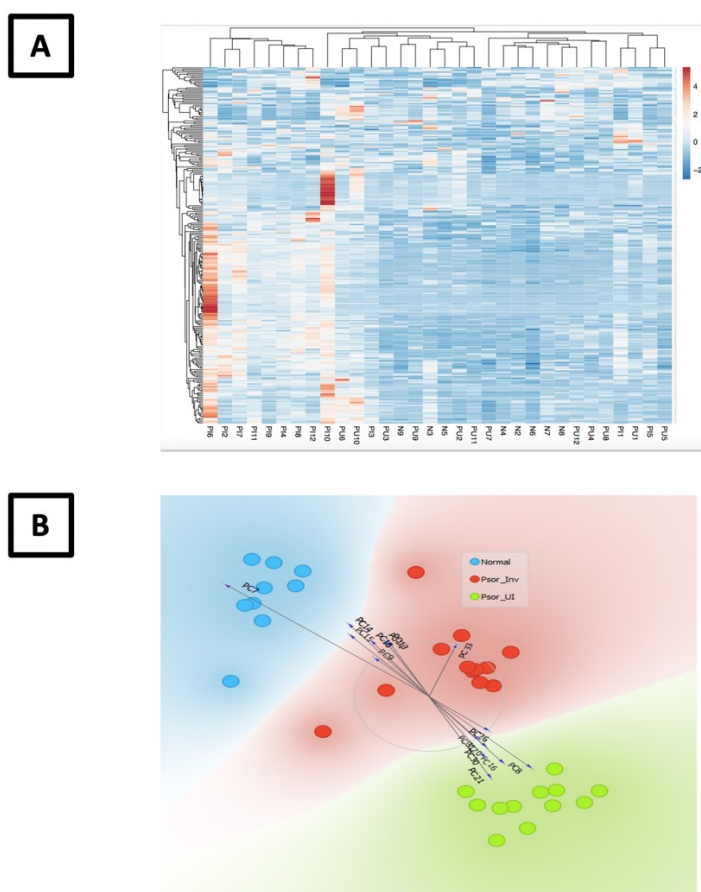
- QUA\_1: Esiste un piano di miglioramento
- QUA\_2: Il piano è noto all'organizzazione e condiviso
- QUA\_3: Si attua e valuta il piano di miglioramento

### 3.0 RISULTATI

#### 3.1 Metabolomica cutanea nei pazienti con psoriasi

Le biopsie di cute non lesionale differivano da quelle di cute lesionale e da quelle dei controlli per 139 e 46 metaboliti, rispettivamente ( $p < 0.05$ ) (Materiali supplementari 1). Tale differenza risultata dall'analisi Welch's Two Sample t-Test è stata confermata sia nella Heatmap ottenuta con ClusterVis (Figura 1 A), sia nella proiezione multivariata di FreeViz (Figura 1 B).

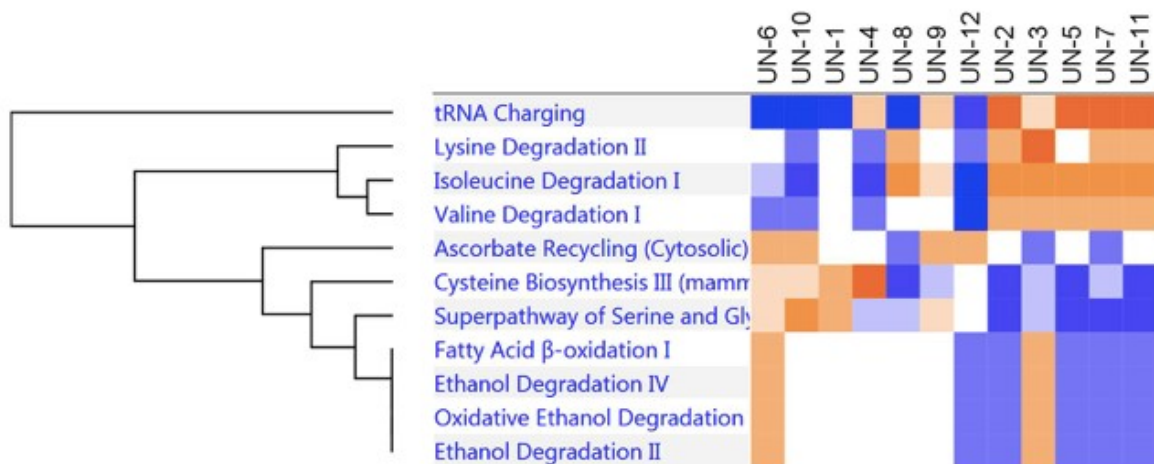
**Figura 1.** A: Heatmap dei metaboliti identificati nelle biopsie di cute non lesionale (PU), lesionale (PI) e sana (N). B: La visualizzazione multivariata è riuscita a distinguere i tre gruppi di biopsie.



L'analisi con IPA (Ingenuity Pathways analysis) ha delineato che la stessa cute non lesionale di pazienti psoriasici aveva numerosi pathways disregolati, riconducibili principalmente alla biosintesi e degradazione degli aminoacidi, alla metabolizzazione dell'alcol etilico ed al t-RNA (Figura 2), che la distinguevano dalla cute di soggetti sani avvalorando la letteratura scientifica che definiva la psoriasi come patologia sistemica<sup>39</sup>.

<sup>39</sup> Korman NJ. Management of psoriasis as a systemic disease: what is the evidence? Br J Dermatol. 2020 Apr;182(4):840-848.

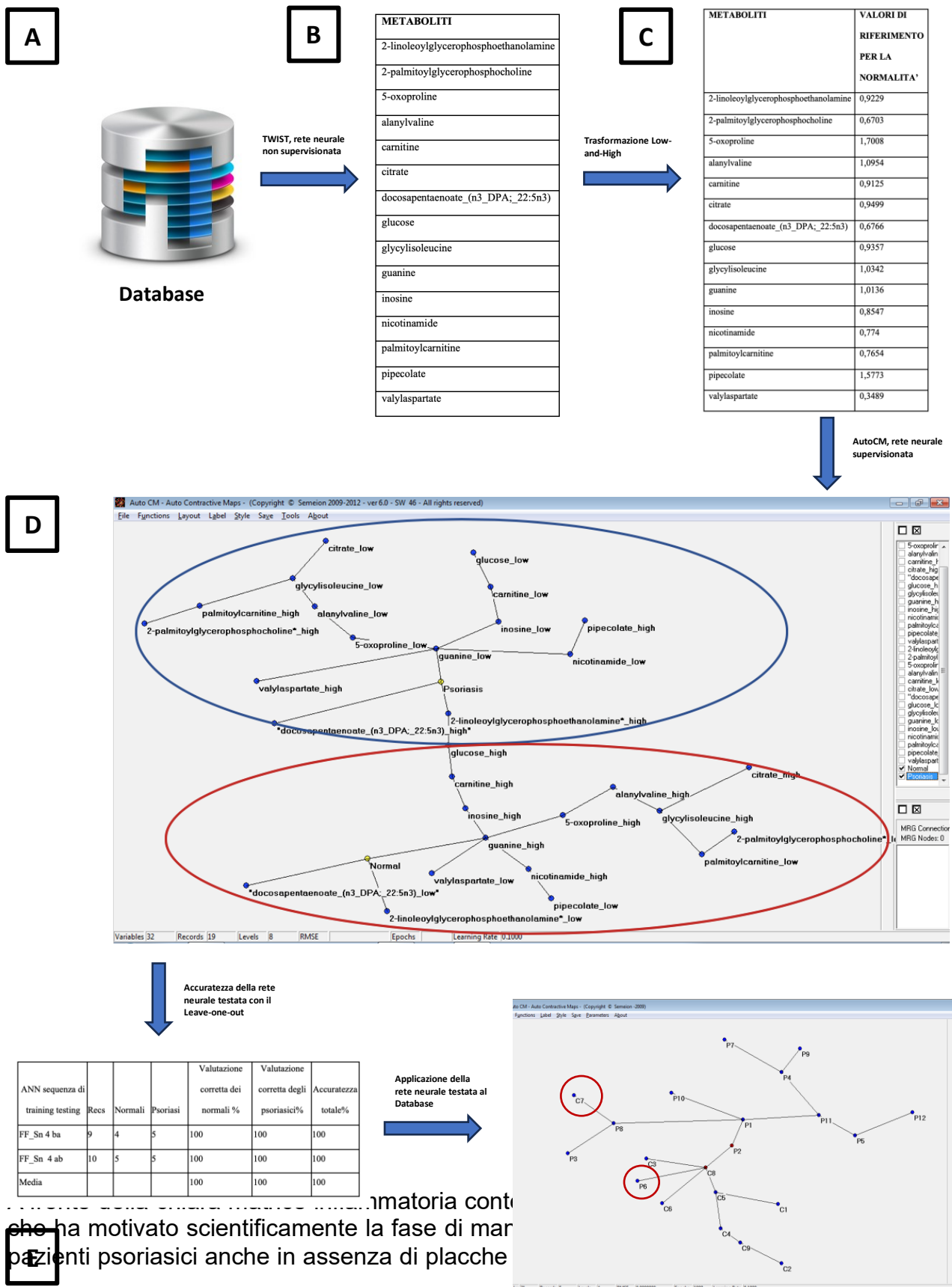
**Figura 2.** Valutazione dei pathways canonici nella sola cute non lesionale (activation z score [-1.839—1.867]).



L'intero database (Figura 3A) è stato poi rivalutato con TWIST per individuare il minor numero di metaboliti che potessero distinguere la cute non lesionale da quella sana dei controlli e questa analisi dopo 1000 epoche ha consegnato una lista di 15 metaboliti (Figura 3B). Quindi, la trasformazione Low-and-High è stata utilizzata per rimodellare ogni intervallo di variabili da 0 (basso) a 1 (alto) calcolando il nuovo valore di normalità (Figura 3C). Quindi questi 15 metaboliti, dopo la trasformazione "Low and High", sono diventati 30 e sono stati collegati a reti neurali artificiali supervisionate (AutoCM) per valutare il loro cluster attorno alle categorie cute non lesionale e cute sana (Figura 3D). Successivamente, abbiamo voluto dimostrare che il nostro set di biomarcatori predittivi poteva essere adottato per separare la cute non lesionale da quella sana e abbiamo testato l'accuratezza di questo algoritmo con il protocollo Leave-one-out (Figura D). Avendo ottenuto un'accuratezza teorica del 100% abbiamo riapplicato tale algoritmo al nostro database, che però ha commesso due errori di appaiamento cerchiati in rosso (Figura E). Questo dato potrebbe essere agevolmente eliminato andando ad aumentare la numerosità del campione iniziale.



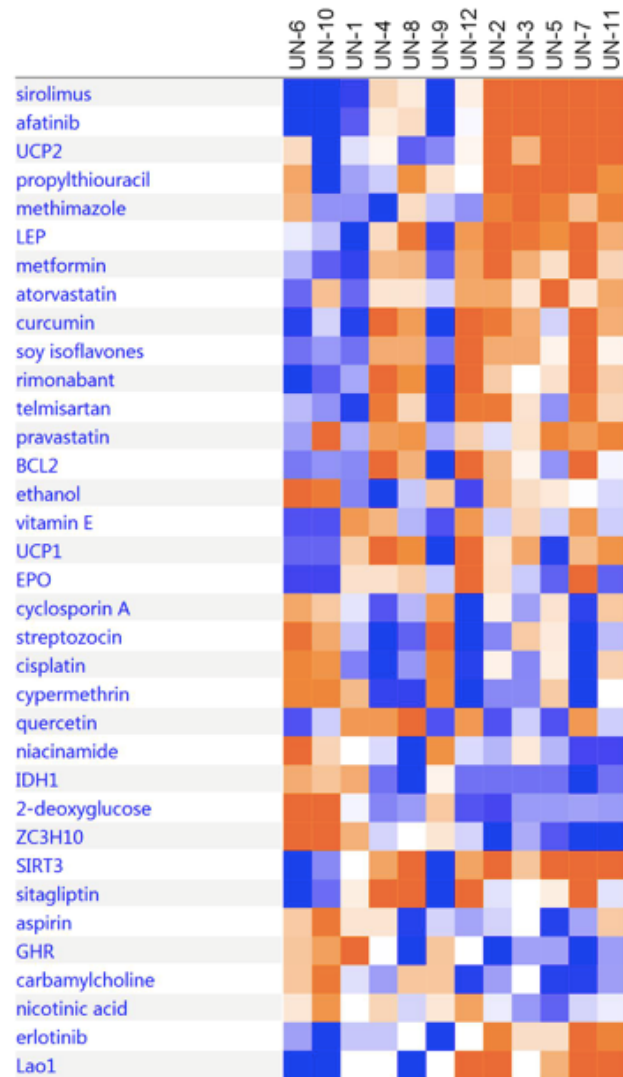
**Figura 3.** Passaggi nella costruzione di una rete neurale accurata che riconosca con meno di 20 metaboliti la cute non lesionale da quella di soggetti sani.



...matoria cont  
 che ha motivato scientificamente la fase di mar  
 pazienti psoriasici anche in assenza di placche

*repurposing* con IPA sulla sola cute lesionale (Figura 4). Tale esercizio sottende l'intento di ipotizzare nuovi protocolli che vadano ad impiegare il farmaco immunosoppressore biologico ad alto costo solo in una prima fase con obiettivo l'ottenimento del PASI 100, mentre per il mantenimento un farmaco derivante dall'analisi dei pathways rimasti alterati nel soggetto, in un'ottica di precision medicine.

**Figura 4.** Differenti farmaci individuati da IPA in grado di ristabilire le vie metaboliche alterate nella



Oltre ai farmaci anti-psoriatici noti (sirolimus e ciclosporina A)<sup>40</sup>, che accrescono la solidità del nostro metodo di drug-reproposal, sono stati trovati molti altri farmaci recentemente proposti (metformina, statine)<sup>41</sup>.

Si è, poi, analizzato con MetaboAnalyst5.0 e la *qualitative enrichment analysis* l'impatto di questi pathways alterati nei vari organi per provare a dare un razionale

<sup>40</sup> Wang C, Lin A. Efficacy of topical calcineurin inhibitors in psoriasis. J Cutan Med Surg. 2014 Jan-Feb;18(1):8-14. Berth-Jones J. The use of ciclosporin in psoriasis. J Dermatolog Treat. 2005;16(5-6):258-77.

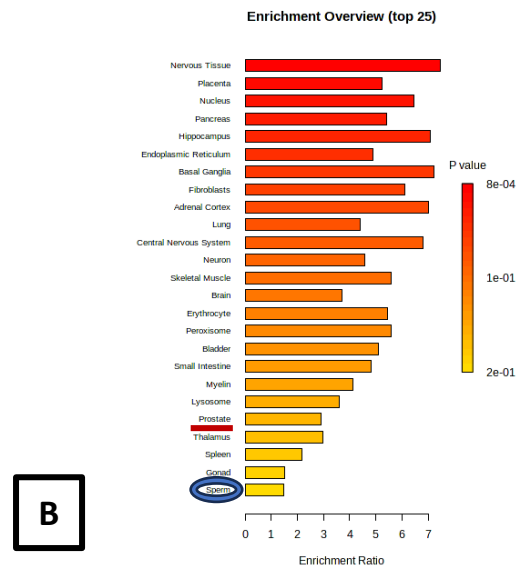
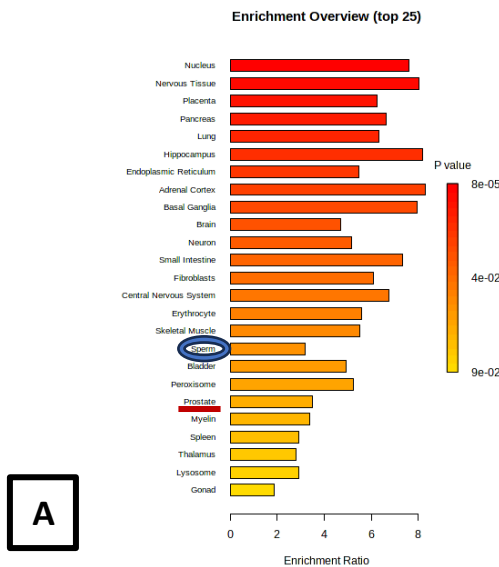
<sup>41</sup> Stanescu AMA, Simionescu AA, Florea M, Diaconu CC. Is Metformin a Possible Beneficial Treatment for Psoriasis? A Scoping Review. J Pers Med. 2021 Mar 30;11(4):251. Ramessur R, Gill D. The effect of statins on severity of psoriasis: A systematic review. Indian J Dermatol Venereol Leprol. 2017 Mar-Apr;83(2):154-161.

alla dinamica psoriasi-comorbidità. Particolare attenzione è stata riservata all'apparato riproduttivo maschile (Figura 5).

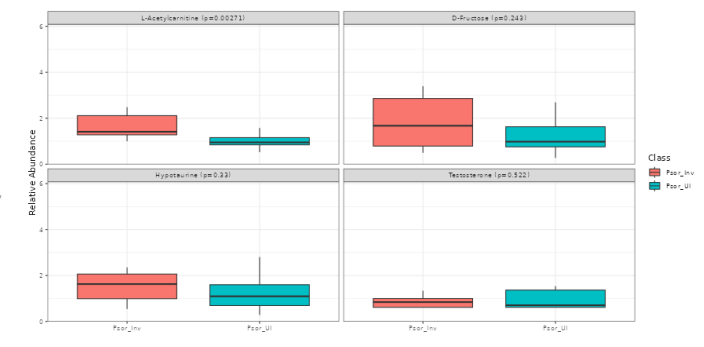
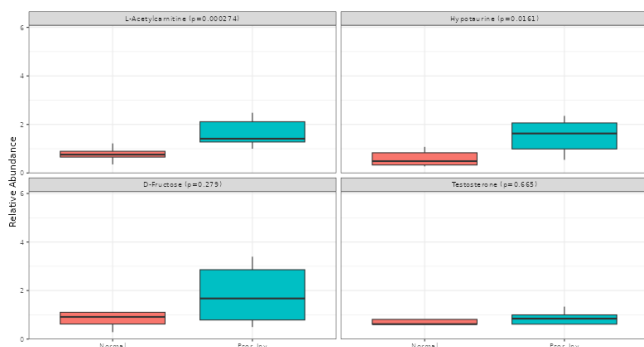
**Figura 5. Qualitative enrichment analysis con valutazione dei metaboliti significativi**

### Cute Lesionale vs Sana

### Cute Lesionale vs Non lesionale



### SPERMA



In ambedue le analisi effettuate sono emerse delle vie metaboliche alterate che andavano a compromettere sia la produzione di energia dello spermatozoo che la motilità, argomento poco valutato in letteratura e solo con studi che utilizzavano la conta degli spermatozoi e raramente la motilità<sup>42</sup>.

<sup>42</sup> Caldarola G, Milardi D, Grande G, et al. Untreated psoriasis impairs male fertility: a case-control study. *Dermatology*. 2017;233(2-3):170-174. Liu H, Li H. Effects of acitretin on semen quality and reproductive hormone levels in patients with psoriasis vulgaris. *Dermatol Sin*. 2017;35(2):55-58. Parsch E, Ruzicka T, Przybilla B. Andrological investigation in men treated with acitretin (Ro 10-1670). *Andrologia*. 1990;22(5):479-482. Torok L, Kadar L, Kasa M. Spermatological investigations in patients treated

### 3.2 Revisione sistematica della letteratura su psoriasi e parametri spermatici

La revisione sistematica della letteratura ha restituito nove studi in materia di psoriasi e parametri spermatici che sono esposti ed analizzati in Tabella 1.

**Tabella 1.** Studi clinici selezionati dalla letteratura considerata ed inclusi nella revisione sistematica

Study Type	Study Intervention	Control Group	Seminal Parameters Outcomes	Endocrine Outcomes	Identified bias (Joanna Briggs Institute Critical Appraisal Tool)	Reference
Case-control study	MTX (n=10)	Topical Corticosteroids (n=10)	No difference of semen quality between cases and controls	N/A	No analysis of confounding factors	Grunnet et al., 1977
Prospective observational study	MTX 10 mg/week (n=26)	N/A	No effect on sperm count, motility, or morphology. No alteration in testicular histology or spermatogenic tests (n=6)	N/A	No analysis of confounding factors Unclear measurement of outcomes Too short follow up Unclear statistical analysis reported	El-Beheiry et al., 1979
Case report	MTX 15 mg/week (n=1)	N/A	Oligoasthenozoospermia and poor morphology that improved after discontinuation	No difference of T, FSH or LH	Unclear patient's history reported	Sussman et al., 1980
Prospective observational study	Etretinate 50-75 mg/Kg/day (n=15) Isotretinoin 1 mg/Kg/day (n=13)	N/A	Etretinate improved progressive motility and morphology and decreased fructose concentration. Isotretinoin improved total and progressive motility, and decreased total sperm count and fructose	N/A	No analysis of confounding factors Unclear measurement of outcomes	Török et al., 1987
Case-control study	Acitretin 25 - 50 mg/day (n=5);	Healthy males (n=6)	No difference of sperm count, motility, viability, morphology or seminal fructose between cases and controls	No difference of T, FSH or LH	Unclear identification and match of cases and controls No analysis of confounding factors Unclear statistical analysis reported	Parsch et al., 1990
Case report	Pustular psoriasis MTX 20 mg/week (n=1)	N/A	The patient was oligoasthenozoospermic after 4 months of MTX treatment	Normal hormonal status	Unclear patient's demographic characteristics reported No description of diagnostic tests or assessment methods	Pandhi et al., 2006
Case-control study	Psoriatic patients (n=50)	Healthy males (n=50)	Patients reduced	showed sperm ↓ T, SHBG; ↑ E <sub>2</sub>	No analysis of confounding factors	Caldarola et al., 2017

with etretinate and isotretinoin. *Andrologia*. 1987;19(6):629-633. Sussman A, Leonard M, Leonard JM. Psoriasis, methotrexate, and oligospermia. *Arch Dermatol*. 1980;116(2):215-217. Grunnet E, Nyfors A, Hansen KB. Studies of human semen in top-ical corticosteroid-treated and in methotrexate-treated psoriatics. *Dermatologica*. 1977;154(2):78-84. El-Beheiry A, El-Mansy E, Kamel N, Salama N. Methotrexate and fertility in men. *Arch Androl*. 1979;3(2):177-179. Pandhi D, Gupta R, Singal A. Gynaecomastia with oligospermia: an unusual complication of low-dose methotrexate for pustular psoriasis. *Clin Exp Dermatol*. 2006;31(1):138-140. Heppt F, Colzman A, Maronna A, et al. Influence of TNF-alpha inhibitors and fumaric acid esters on male fertility in psoriasis patients. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2017;31(11):1860-1866

			concertation, motility, and morphology	[U/S sg of Genital Tract Inflammation]		
<b>RCT</b>	Acitretin 20 mg/day (n=15)	Healthy males (n=14)	No difference of concentration, motility, viability, morphology or SDF between cases and controls	No difference of T, FSH or LH	Unclear process for randomization and blinding	Liu & Li, 2017
	Acitretin 30 mg/day (n=16)					
<b>Observational prospective study</b>	Etanercept or adalimumab (n=10)	Baseline: no treatment (n=27)	At the baseline: Oligo-, astheno, tertazoospermia, leukocytospermia.	N/A	No analysis of confounding factors Incomplete report of follow up	Heppt et al., 2017
	Fumaric acid esters (n=4)		Fumic acid reduced leukocytospermia and PMN elastase. No influence of TNF- $\alpha$ inhibitors			

**Abbreviazioni:** E<sub>2</sub>: estradiol; MTX: methotrexate; PMN: polymorphonuclear; RCT: randomized controlled trial; SDF: sperm DNA fragmentation; T: testosterone; U/S sg: ultrasound signs.

Dalla revisione sistematica della letteratura si possono evincere chiaramente due principali aree grigie:

- La valutazione della frammentazione del DNA degli spermatozoi pre e post terapia, sia biologica che convenzionale (integrità del messaggio genetico);
- La valutazione dei livelli di citochine del liquido seminale comparata con quelli sistemici pre- e post- terapia (potenziale microambiente infiammatorio in organo santuario);

I risultati sono stati pubblicati sull' *American Journal of Reproductive Immunology*<sup>43</sup>.

### 3.3 Valutazione epidemiologica di infertilità maschile e psoriasi in Italia e nel mondo utilizzando le stime del Global Burden of Diseases

#### 3.3.1 Fertilità maschile

Sono stati identificati e utilizzati per stimare la fertilità specifica per età 8078 record nazione specifici, 938 surveys, 349 censimenti, e 238 altre risorse. La regressione del processo gaussiano spaziotemporale (ST-GPR) è stata utilizzata per generare tassi di fertilità specifici per età per gruppi di età di 5 anni compresi tra 15 e 49 anni. Con estensioni ai gruppi di età 10-14 e 50-54 anni, il tasso di fertilità totale (TFR) è stato poi aggregato utilizzando la fertilità specifica per età stimata tra 10 e 54 anni.

Il TFR globale è declinato dal 1950 al 2019 passando da 4,97 (4,79-5,16 CI) a 2,31 (2,17- 2,46 CI) ed il fenomeno affligge principalmente il sesso femminile in quanto gli studi epidemiologici sul sesso maschile sono pochi e molto eterogenei. Focalizzando sull'Italia il TFR è declinato da 2,44 (2,42-2,45 CI) del 1950 a 1,30 (1,19-1,44 CI) del 2019.

<sup>43</sup> Finelli R, Leisegang K, Finocchi F, De Masi S, Agarwal A, Damiani G. The impact of autoimmune systemic inflammation and associated medications on male reproductive health in patients with chronic rheumatological, dermatological, and gastroenterological diseases: A systematic review. *Am J Reprod Immunol.* 2021 May;85(5):e13389.

Per ulteriori dettagli rifarsi al mio manoscritto pubblicato su *Lancet*<sup>44</sup>.

### **3.3.2 Psoriasi**

Secondo la metodologia GBD 2019, nel 2019 si sono verificati 4.622.594 (95% UI 4.458.904–4.780.771) casi incidenti di psoriasi in tutto il mondo. Il tasso di incidenza standardizzato per età nel 2019 è stato di 57,8 (95% UI 55,8–59,7) per 100.000 persone. Rispetto al 1990 ciò corrisponde ad un calo del 20,0% (95% IU da -20,2 a -19,8). Per sesso, il tasso di incidenza standardizzato per età era simile tra gli uomini [57,8 (95% UI 55,8–59,8) per 100.000 persone] e le donne [(57,8 (95% UI 55,8–59,7) per 100.000 persone). Questi risultati suggeriscono una diminuzione del 19,5% (95% UI da -19,8 a -19,2) e del 20,4% (95% UI da -20,7 a -20,2) rispettivamente per gli uomini e le donne. A livello regionale, i paesi e territori ad alto reddito hanno avuto il più alto tasso di incidenza standardizzata della psoriasi per età [112,6 (95% UI 108,9-116,1)], seguiti dai paesi con SDI medio-alto [69,4 (95% UI 67,1–71,9)], mentre i paesi con basso SDI hanno riportato il tasso più basso [38,1 (95% UI 36,8–39,5)]. La prevalenza ha globalmente seguita la medesima tendenza.

Focalizzando sull'Italia, è passata da una incidenza 184,4 (95% UI 178,3-190,4) nel 1990 a 172,8 (95% UI 167,0-178,7) nel 2019 registrando un decremento del 6,3%. In merito alla prevalenza è passata da 2033,2 (95% UI 1965,0-2097,3) del 1990 a 1891,2 (95% UI 1826,2-1954,0) del 2019 registrando un decremento del 7,0%. Non sono risultate significative le analisi per sesso.

Per ulteriori dettagli rifarsi all'articolo pubblicato su *Frontiers in Medicine*<sup>45</sup>.

### **3.4 Studio di associazione genome-wide tra psoriasi e infertilità maschile**

Lo studio GWAS non ha consegnato nessun polimorfismo comune tra la psoriasi e l'infertilità maschile. Questo dato indirizza l'ipotesi di ricerca verso una patogenesi infiammatoria, escludendo sulla base delle conoscenze odierne, la presenza di polimorfismi che costituiscano fattori di rischio per entrambe le entità patologiche.

### **3.5 Revisione delle linee guida sul trattamento sistemico della psoriasi e redazione del consensus italiano ed europeo sul metotressato**

Tutte le linee guida ed i consensus italiani esaminati dal 1990 al 2020 non riportano alcuna considerazione in merito alla fertilità maschile. Il metotressato e l'acitretina hanno, invece, un comprovato effetto negativo sulla spermatogenesi che viene unicamente menzionato sul libretto illustrativo. Tra i farmaci convenzionali, il metotressato risulta essere il più utilizzato e, pertanto, abbiamo deciso di creare un consensus italiano sul suo utilizzo in dermatologia per andare a chiarire alcune aree grigie come la fertilità maschile.

---

<sup>44</sup> GBD 2019 Demographics Collaborators. Global age-sex-specific fertility, mortality, healthy life expectancy (HALE), and population estimates in 204 countries and territories, 1950-2019: a comprehensive demographic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet*. 2020 Oct 17;396(10258):1160-1203.

<sup>45</sup> Damiani G, Bragazzi NL, Karimkhani Aksut C, Wu D, Alicandro G, McGonagle D, Guo C, Dellavalle R, Grada A, Wong P, La Vecchia C, Tam LS, Cooper KD, Naghavi M. The Global, Regional, and National Burden of Psoriasis: Results and Insights From the Global Burden of Disease 2019 Study. *Front Med (Lausanne)*. 2021 Dec 16;8:743180.

È stato raggiunto il consenso su affermazioni che coprono sei aree principali: (1) esami pre-screening e monitoraggio della terapia; (2) dosaggio e somministrazione in pazienti naive al metotressato; (3) strategia ottimale per i pazienti in remissione; (4) uso di acido folico; (5) sicurezza; e (6) predittori di tossicità ed efficacia. Raccomandazioni specifiche sono fornite per tutte le 23 affermazioni tra cui anche il desiderio di paternità (Tabella 2).

**Tabella 2.** Quesito sulla fertilità maschile e metotressato

Question	Statement	Mean voting score		
		First round (19 votes)	Second round (69 votes)	Third round (54 votes)
(19) What precautions should be taken in patients with psoriasis and paternity desire being treated with MTX?	It is important and appropriate to carry out counseling and guide the patient in the choice by informing him of the possible transient alterations of sperm parameters	> 7	6.74	7.7

Per ulteriori dettagli rifarsi all'articolo pubblicato su *Dermatology and Therapy*<sup>46</sup>.

I concetti di *safety* ed efficacia nelle popolazioni speciali sono stati ulteriormente trattati anche nel consensus internazionale al quale ho partecipato. Per ulteriori dettagli consultare la pubblicazione su *JAMA Dermatology*<sup>47</sup>.

### 3.6 Comorbidoma dei pazienti con psoriasi che sviluppano infertilità maschile utilizzando il CLALIT database

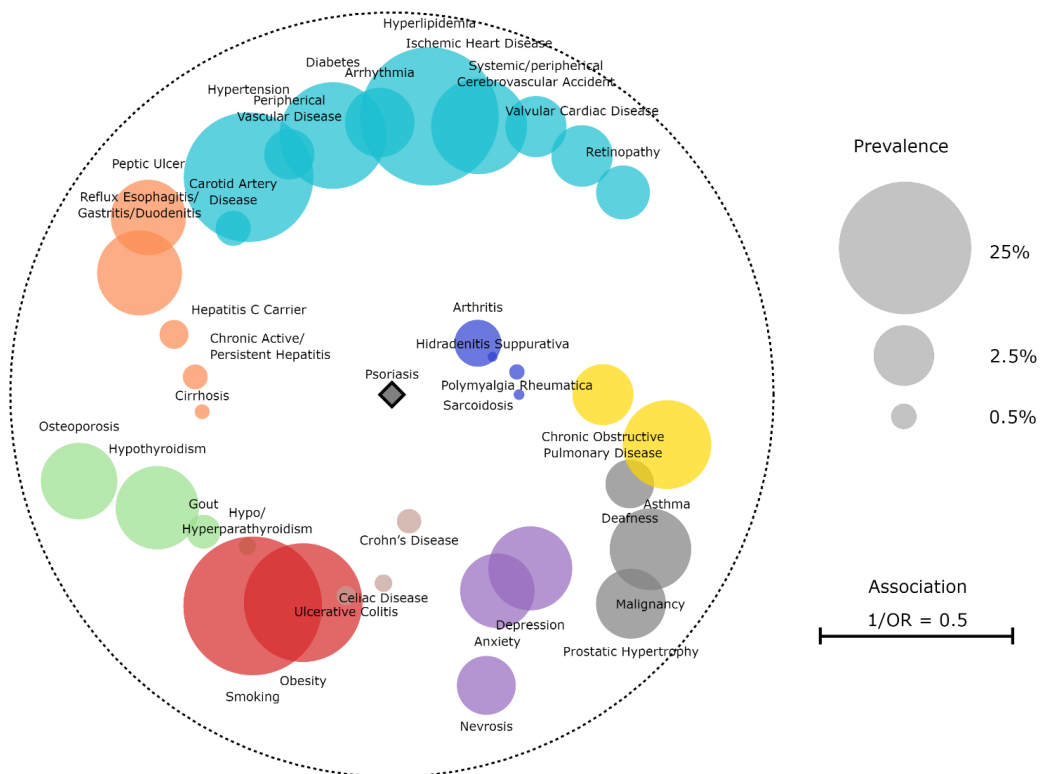
In collaborazione con l'assicurazione sanitaria israeliana CLALIT ed i Prof. Khalaf Kridin ed Arnon Dov Cohen è stato costruito un database con tutti i pazienti affetti da psoriasi moderata-grave che avessero un follow-up di almeno 10 anni e di controlli appaiati per sesso ed età.

In questo studio caso-controllo, sono stati arruolati un totale di 28.614 pazienti affetti da PsO e 28.614 controlli con un'età media di  $45,3 \pm 19,6$  anni. Al momento della diagnosi, i pazienti affetti da PsO avevano una maggiore prevalenza di diagnosi di 2-4 comorbidità (28,8% vs. 23,8%,  $p < 0,001$ ) o >5 comorbidità (19,6% vs. 12,9%,  $p < 0,001$ ). Il comorbidoma dei pazienti al momento della diagnosi di psoriasi (Figura 6).

<sup>46</sup> Damiani G, Amerio P, Bardazzi F, Carrera CG, Conti A, Cusano F, Dapavo P, DeSimone C, El Hachem M, Fabbrocini G, Gisondi P, Loconsole F, Micali G, Neri I, Parodi A, Piaserico S, Romanelli M, Stingeni L; METHOD study working group; Pigatto PDM. Real-World Experience of Methotrexate in the Treatment of Skin Diseases: an Italian Delphi Consensus. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2023 Jun;13(6):1219-1241.

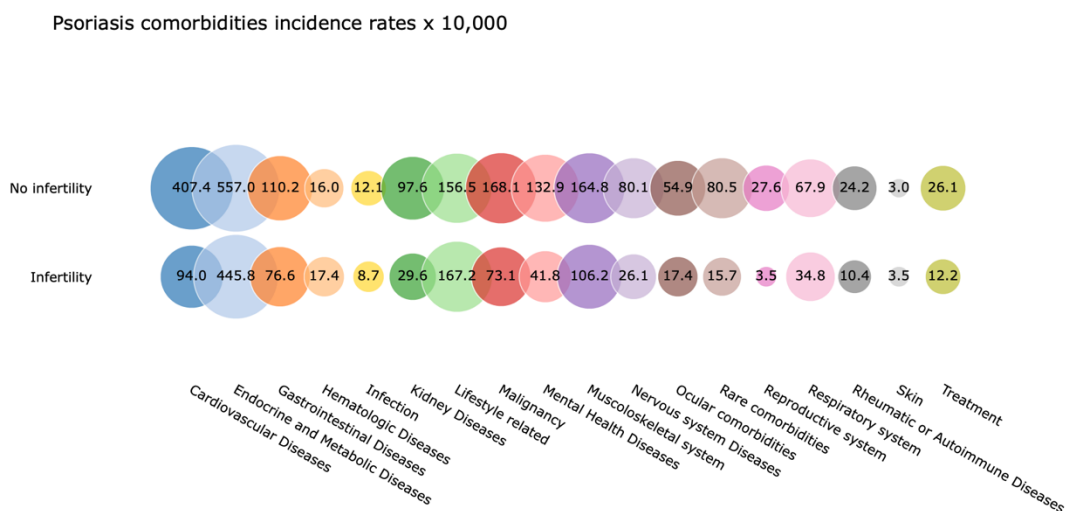
<sup>47</sup> van Huizen AM, -Damiani G, -Veldkamp W. International eDelphi Study to Reach Consensus on the Methotrexate Dosing Regimen in Patients With Psoriasis. *JAMA Dermatol*. 2022 May 1;158(5):561-572.

**Figura 6.** Comorbidoma dei pazienti con psoriasi al momento della diagnosi



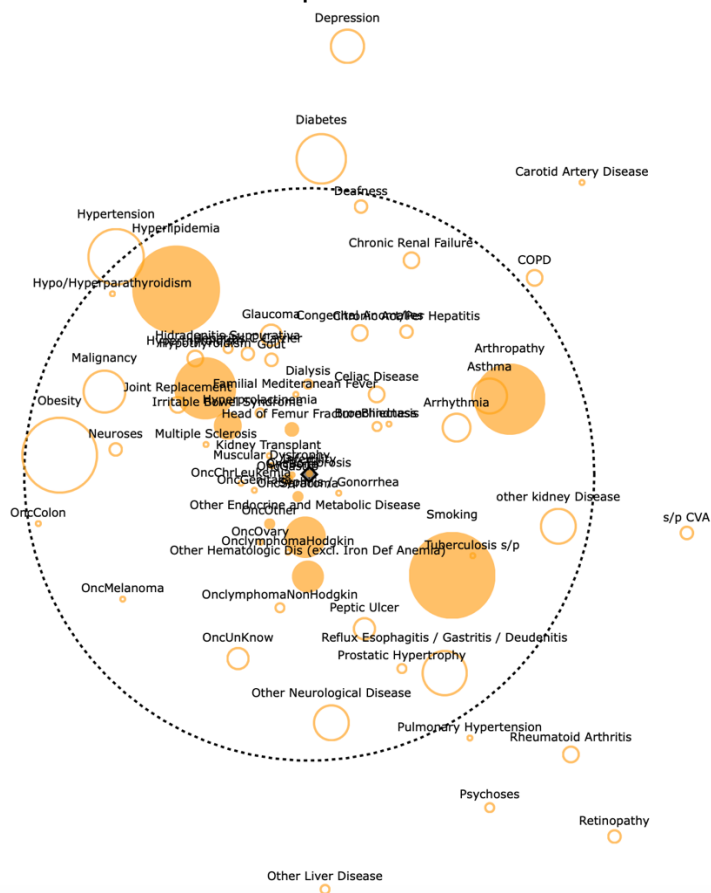
I pazienti con psoriasi che nel corso del follow-up hanno sviluppato infertilità maschile sono stati valutati ed è stato stabilito il comorbidoma (Figura 7) e le comorbidità che maggiormente hanno contribuito allo sviluppo dell'infertilità maschile in pazienti con psoriasi (Figura 8).

**Figura 7.** Comorbidoma di pazienti di sesso maschile infertili vs non infertili con psoriasi





**Figura 8.** Comorbidoma di pazienti con infertilità maschile e psoriasi



Le comorbidità dei pazienti con psoriasi che aumentano la probabilità di sviluppare infertilità maschile sono risultate l'artrite psoriasica, fumo, dislipidemia, neoplasie ematologiche.

In linea con la letteratura<sup>48</sup>, lo sviluppo di artrite psoriasica è stato confermato anche da un punto di vista epidemiologico come un fattore di rischio per sviluppare infertilità maschile.

### 3.7 Survey sui pazienti in terapia biologica con desiderio di paternità

Per quantificare la prevalenza di pazienti infertili nella nostra coorte abbiamo adottato la definizione di infertilità primaria dell'Organizzazione Mondiale della Sanità: incapacità di concepire all'interno di una coppia che perdura per più di 24 mesi.

Preliminarmente ho costruito con uno psicologo clinico (A.B) un questionario di 12 domande basato sulla scala psicometrica di Linkert avente tre domini (conoscenza, attitudine e pratica) di 4 domande cadauno. L'attendibilità del questionario è stata valutata ottimale con l'alfa di Cronbach e poi somministrato a 70 pazienti con psoriasi dai 30 ai 60 anni. Dal questionario di Linkert che era stato redatto è stato possibile

<sup>48</sup> Pollock RA, Zaman L, Chandran V, Gladman DD. Epigenome-wide analysis of sperm cells identifies IL22 as a possible germ line risk locus for psoriatic arthritis. PLoS One. 2019, 19;14(2):e0212043.

evidenziare che 38 (54,3%) avevano una scarsa conoscenza delle specifiche del farmaco con il quale erano trattati e non sapevano l'effetto potenziale sulla fertilità maschile.

Abbiamo pertanto distribuito dei moduli anonimi a 370 pazienti maschi tra i 30 ed i 60 anni di età ( $39,4 \pm 14,1$  anni) in trattamento con un farmaco biologico raccogliendo informazioni inerenti al desiderio di paternità, all'utilizzo di tecniche di fecondazione artificiale ed all'eventuale prole. È, poi, stata stabilita la prevalenza di infertilità maschile della coorte in esame.

Dai 370 questionari spediti abbiamo ottenuto 358 (96,8%) risposte. Del campione in studio 326 (91,1%) avevano espresso un desiderio di paternità e 73 (22,4%) ricadevano sotto la definizione di infertilità maschile e pensavano di utilizzare tecniche di fecondazione artificiale, 41 (12,6%) avevano usato PMA. Tra coloro che avevano utilizzato tecniche di PMA, 18 avevano superato i 5 tentativi giunti al trasferimento embrionario.

Motivato dai risultati ottenuti, ho tenuto 3 incontri formativi in materia di fertilità ad un totale di 68 pazienti di sesso maschile in trattamento con biologico presso l'IRCCS Istituto Ortopedico Galeazzi tra il dicembre 2020 e marzo 2021.

### **3.8 Survey telefonico nei centri di fertilità italiani sull'argomento farmaci della psoriasi e PMA**

Per valutare il *modus operandi* e l'attenzione alla patologia psoriasica dei centri di PMA ho contattato telefonicamente tutti i centri di PMA censiti dall'Istituto Superiore di Sanità (N=326).<sup>49</sup>

Alla survey hanno partecipato 230 (61,3%) centri in Italia.

Sorprendentemente 128 (55,7%) centri hanno risposto di non sapere se la psoriasi sia una controindicazione (relativa o assoluta) alla fecondazione in vitro, estrazione dei gameti e differenziare tra uovo e sperma, mentre solo 102 (44,3%) hanno confermato che non fosse una controindicazione.

La terapia NB-UVB non è stata giudicata come una controindicazione da 66 (28,7%) centri, mentre non si sono pronunciati 164 (71,3%) centri. In merito alla terapia convenzionale con acitretina e metotressato solo 22 (9,6%) centri hanno sostenuto che sia una controindicazione alla fecondazione in vitro o estrazione dei gameti, 122 (53,0%) non si sono pronunciati e 86 (37,4%) sostengono che non costituisca controindicazione. Per quanto riguarda la terapia con farmaci biologici e small molecules solo 2 (0,9%) centri sono stati concordi nel considerarla una controindicazione alla fecondazione in vitro o estrazione dei gameti, 145 (63,0%) non si sono pronunciati e 53 (23,0%) sostenevano che non fosse una controindicazione. Per aumentare le possibilità di successo della FIVET o della conservazione gameti 26 (11,3%) centri consigliano di interrompere la terapia biologica o con small molecules, 140 (60,9%) non si pronunciano e solo 34 (14,8%) sconsigliano l'interruzione.

---

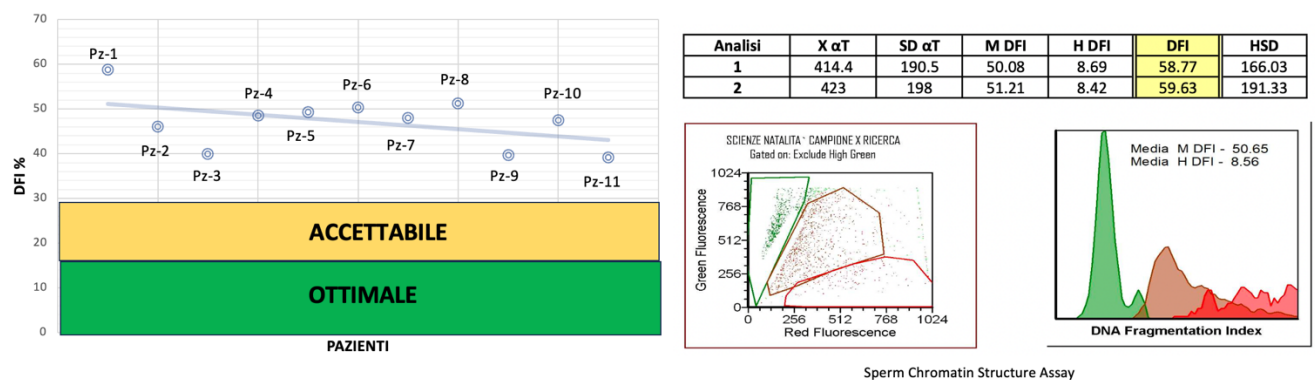
<sup>49</sup> <https://w3.iss.it/site/registropma/pub/centri/centripma.aspx?regione=3> (Ultimo accesso 22.09.2023)

Considerando l'effetto negativo sulla spermatogenesi di acitretina e metotressato, l'effetto preventivo sullo sviluppo di artrite psoriasica dei farmaci biologici, le risposte ottenute dai centri di PMA suggeriscono la necessità di lavorare sul topic e pensare a campagne educative per tutelare maggiormente i pazienti con autoimmunità.

### 3.9 DNA fragmentation in pazienti naive per trattamento sistemico

Nella coorte di pazienti psoriasici candidabili al biologico sono stati testati random con la tecnica della DNA fragmentation 11 pazienti naive anche alla terapia sistemica che avessero >10 anni di malattia (Figura 9).

**Figura 9.** DNA fragmentation in pazienti con psoriasi non trattati, ed alla sinistra esempio di referto.



Tutti ed 11 i pazienti presentavano valori di DFI francamente patologici, ad indicare che l'integrità del materiale genetico trasportato dagli spermatozoi era compromesso anche a fronte di una normospermia e di normali valori di motilità.

### 3.10 Correlazione tra caratteristiche cristallografiche degli epitopi riconosciuti dagli IL-23i ed efficacia (short- e long-term)

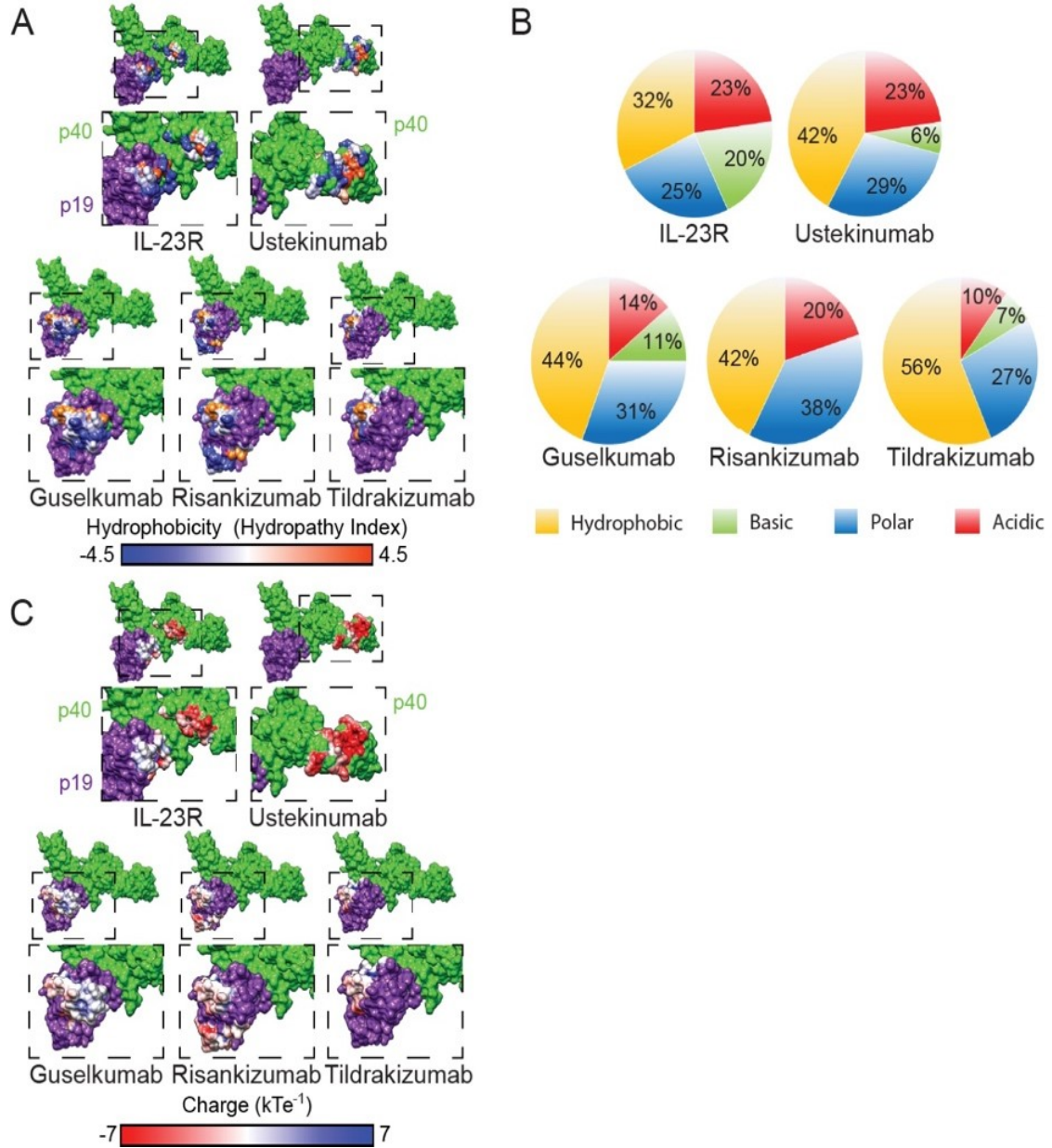
Da una recente revisione sistematica della letteratura è emerso che solo gli IL-23 inibitori vadano effettivamente a prevenire lo sviluppo di artrite psoriasica in pazienti con pregressa psoriasi<sup>50</sup>. Ad ora le linee guida non riportano un ranking in termini di efficacia dei vari IL-23 inibitori e pertanto abbiamo voluto studiare le caratteristiche cristallografiche degli epitopi riconosciuti dai vari farmaci presenti sulla subunità p19 dell'IL-23. L'ipotesi era che le caratteristiche chimiche degli epitopi fossero predittive dell'efficacia short term (10-16 settimane) e long term (44-60 settimane) riportata in una recente meta-analisi<sup>51</sup>.

<sup>50</sup> Singla S, Putman M, Liew J, Gordon K. Association between biological immunotherapy for psoriasis and time to incident inflammatory arthritis: a retrospective cohort study. *Lancet Rheum* 2023;5:4, E200-E207

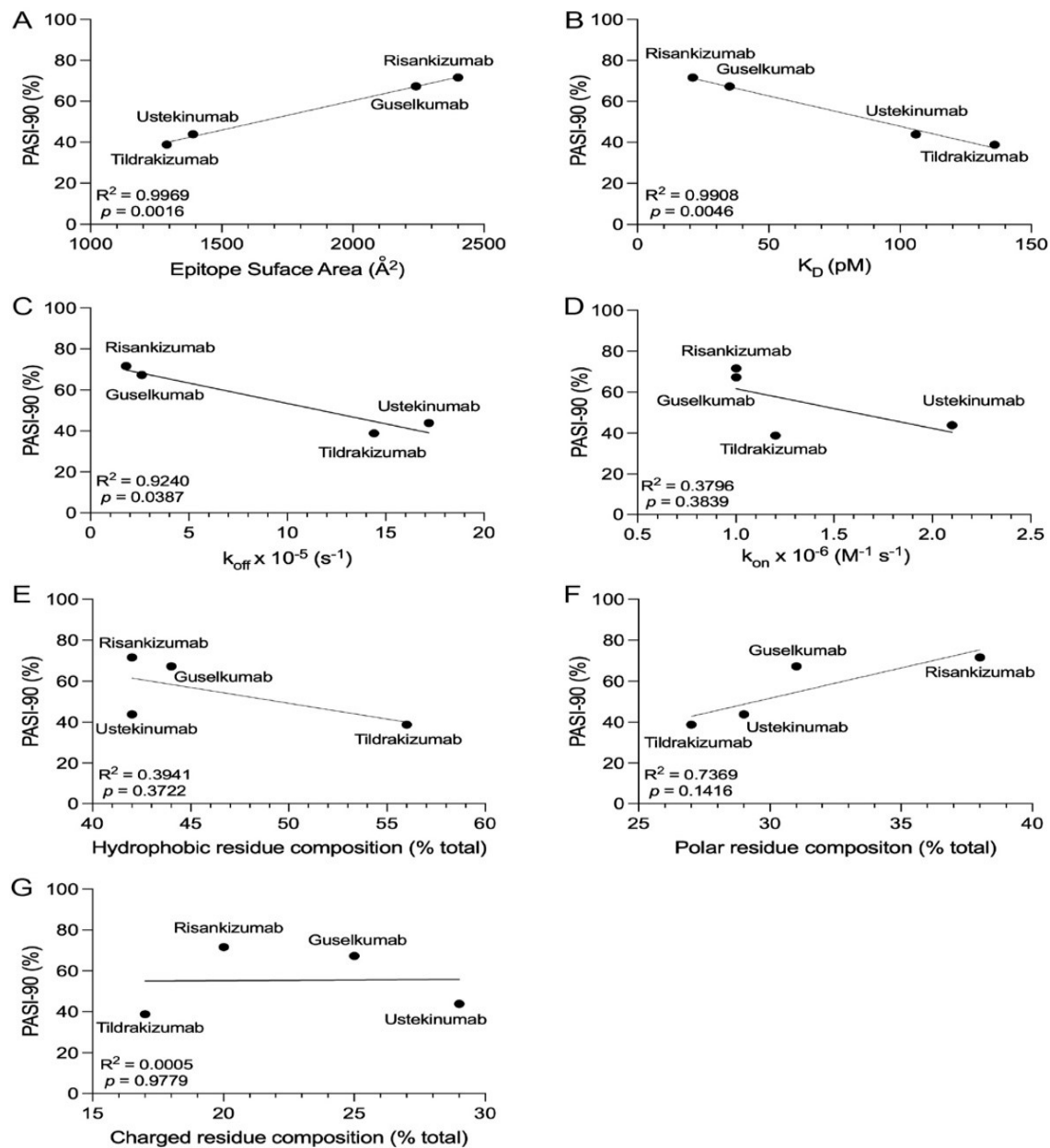
<sup>51</sup> Armstrong AW, Puig L, Joshi A, Skup M, Williams D, Li J, et al. Comparison of Biologics and Oral Treatments for Plaque Psoriasis: A Meta-analysis. *JAMA Dermatol.* 2020;156(3):258-69.

Pertanto, in collaborazione con il Prof Christopher Bunick della Yale University sono state studiate le caratteristiche di biologia molecolare degli epitopi della subunità p19 dell'IL-23 riconosciuti dalla classe di inibitori in esame (Figura 10 e 11).

**Figura 10.** Valutazione delle caratteristiche degli epitopi.



**Figura 11.** Valutazione della correlazione tra le caratteristiche degli epitopi e l'efficacia short term (20 sett)



L'assunto di questa analisi è che complessi biologici IL-23-inibitore più stabili dovrebbero tradursi in una maggiore efficacia clinica per la psoriasi a placche. Una meta-analisi che ha confrontato l'efficacia dell'inibitore dell'IL-23 ha mostrato che a 10-16 settimane risankizumab aveva i migliori risultati in termini di PASI-90, seguito da guselkumab e ustekinumab<sup>52</sup>.

Abbiamo confrontato questi dati con le proprietà strutturali di ciascun epitopo inibitore scoperto durante le nostre analisi. In tal modo, abbiamo trovato una netta correlazione tra l'epitopo SA di ciascun tasso di PASI-90 biologico e a breve termine (10-16 settimane): i farmaci biologici con epitopo SA più elevato (risankizumab e guselkumab, rispettivamente) hanno dimostrato un maggiore raggiungimento del PASI-90 nel breve

<sup>52</sup> Armstrong AW, Puig L, Joshi A, Skup M, Williams D, Li J, et al. Comparison of Biologics and Oral Treatments for Plaque Psoriasis: A Meta-analysis. *JAMA Dermatol.* 2020;156(3):258-69.

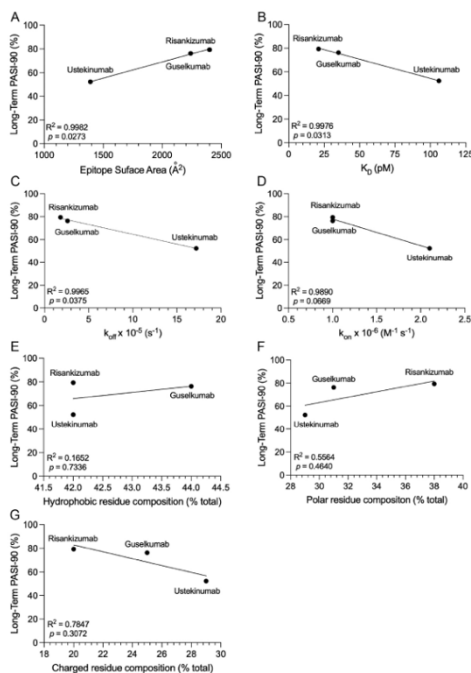
termine, mentre il tildrakizumab, che si lega ad un epitopo più piccolo, ha mostrato il tasso più basso di PASI-90 nello stesso lasso di tempo (Figura 11A,  $R^2 = 0,9969$ ,  $p = 0,0016$ ).

Come previsto, l'aumento dell'affinità di legame ( $K_D$ ) si è tradotto anche in tassi PASI-90 più elevati (Figura 11B;  $R^2 = 0,9908$ ,  $p = 0,0046$ ). È importante sottolineare che  $k_{off}$  era anche fortemente correlato con i tassi PASI-90 (Figura 5C;  $R^2 = 0,9240$ ,  $p = 0,0387$ ) in contrasto con  $k_{on}$  (Figura 11D;  $R^2 = 0,3796$ ,  $p = 0,3839$ ), indicando che la dissociazione più lenta del complesso biologico-IL-23 porta a un trattamento più efficace della psoriasi a placche. Allo stesso modo, l'idrofobicità del residuo totale (Figura 11E;  $R^2 = 0,3941$ ,  $p = 0,3722$ ), la polarità (Figura 11F;  $R^2 = 0,7369$ ,  $p = 0,1416$ ) e il contenuto di carica (Figura 11G;  $R^2 = 0,005$ ,  $p = 0,9779$ ) non erano correlati con efficacia clinica misurata dai tassi PASI-90.

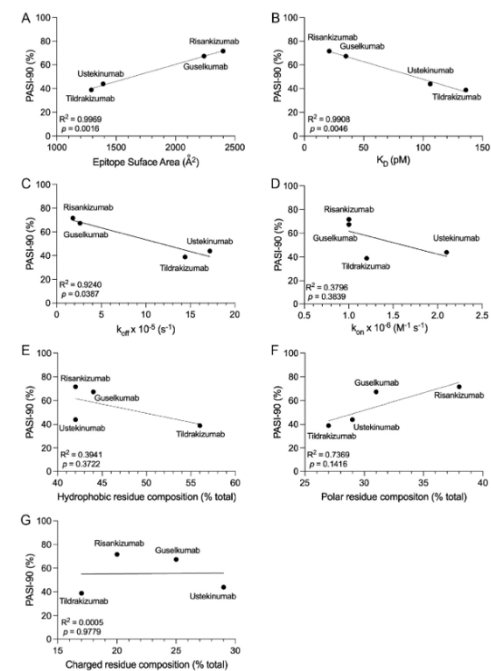
Le caratteristiche chimiche degli epitopi connesse all'efficacia sono sintetizzata in figura 12.

**Figura 12.** Caratteristiche degli epitopi in relazione all'efficacia

**SHORT TERM (10-16 sett)**



**LONG TERM (44-60 sett)**



- L'efficacia nello short term e nel long term è direttamente collegata alla dimensione della superficie dell'epitopo ed inversamente alla  $K_D$  ed alla  $K_{off}$

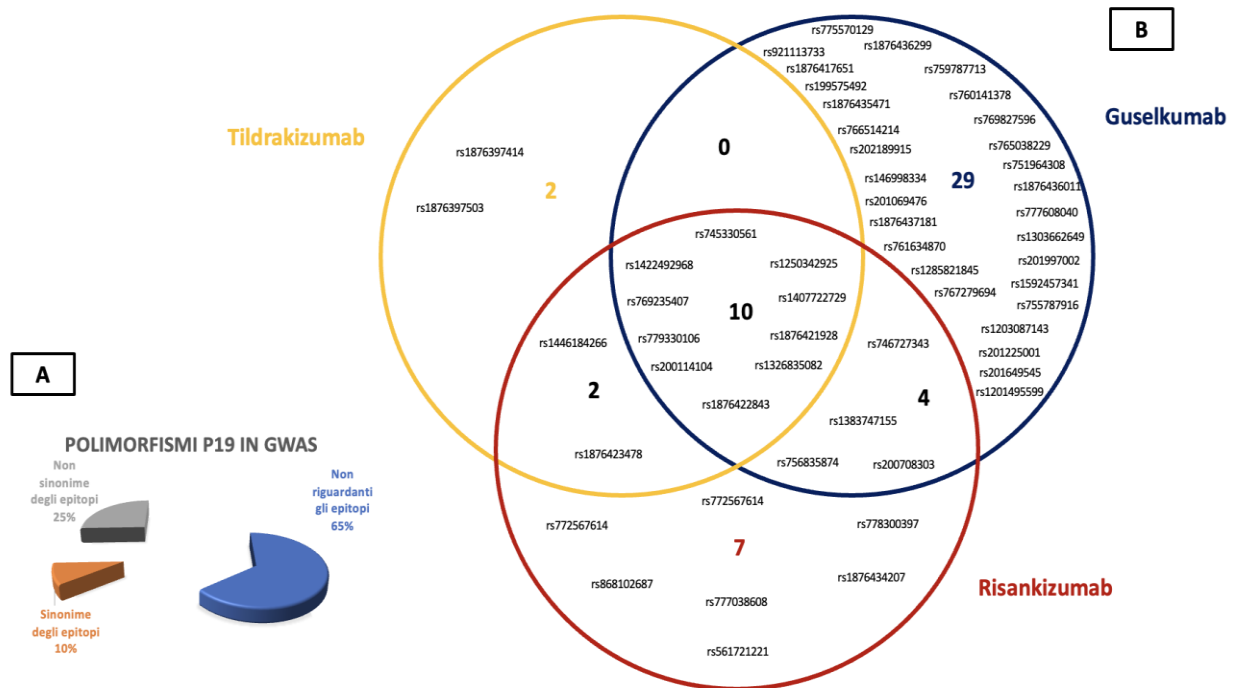
**3.11 Studio genome-wide dei polimorfismi della subunità p19 dell'IL-23 e dei relativi epitopi riconosciuti dagli IL-23i in commercio**

Dopo aver eseguito una survey sui 5 maggiori centri psoriasi italiani ho ottenuto che i *primary failure* su IL-23 inibitori ammontavano a 1/253 pazienti, dato di molto inferiore rispetto alle precedenti classi di biologico ed anche rispetto alle small-molecules<sup>53</sup>. Pertanto, ho deciso di valutare i polimorfismi della subunità p19 dell'IL-23 contenuti nel GWAS per capire le ragioni di un *primary failure* così raro.

<sup>53</sup> Elberdín L, Fernández-Torres RM, Paradelo S, Mateos M, Blanco E, Balboa-Barreiro V, Gómez-Besteiro MI, Outeda M, Martín-Herranz I, Fonseca E. Biologic Therapy for Moderate to Severe Psoriasis. Real-World Follow-up of Patients Who Initiated Biologic Therapy at Least 10 Years Ago. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2022 Mar;12(3):761-770.

Sono state identificate 572 varianti (Materiali supplementari 2), successivamente suddivise in polimorfismi non riguardanti gli epitopi (65%), Varianti sinonime (10%) e varianti non sinonime degli epitopi (25%) (Figura 13A).

**Figura 13.** Quantificazione (A) e classificazione dei polimorfismi della p19 (B)



Da notare che tutti i polimorfismi raggruppati nella figura 13B hanno una prevalenza nella popolazione generale <1% e questo spiega in parte i dati sul *primary failure*. Da rilevare che 10 polimorfismi offrono una resistenza all'attacco di tutti gli IL-23 inibitori.

### 3.12 Analisi del database VigiBase per la valutazione della potenziale disfunzione erettile indotta dagli inibitori IL-12/IL-23, IL-23, IL-17 e IL-17R.

Avendo valutato le caratteristiche degli epitopi ed il link con l'efficacia in termini di prevenzione dell'artrite psoriasica e dell'infertilità maschile, era doveroso considerare anche una potenziale interferenza farmaco-indotta alla fertilità maschile (i.e. disfunzione erettile).

Per svolgere questa valutazione farmacoepidemiologica mi sono avvalso del registro VigiBase ed ho comparato tutti gli IL-23i, IL-17i e IL-12/23i (Figura 14).

**Figura 14.** Valutazione del rischio di disfunzione erettile farmaco indotta dai biologici di ultima generazione.

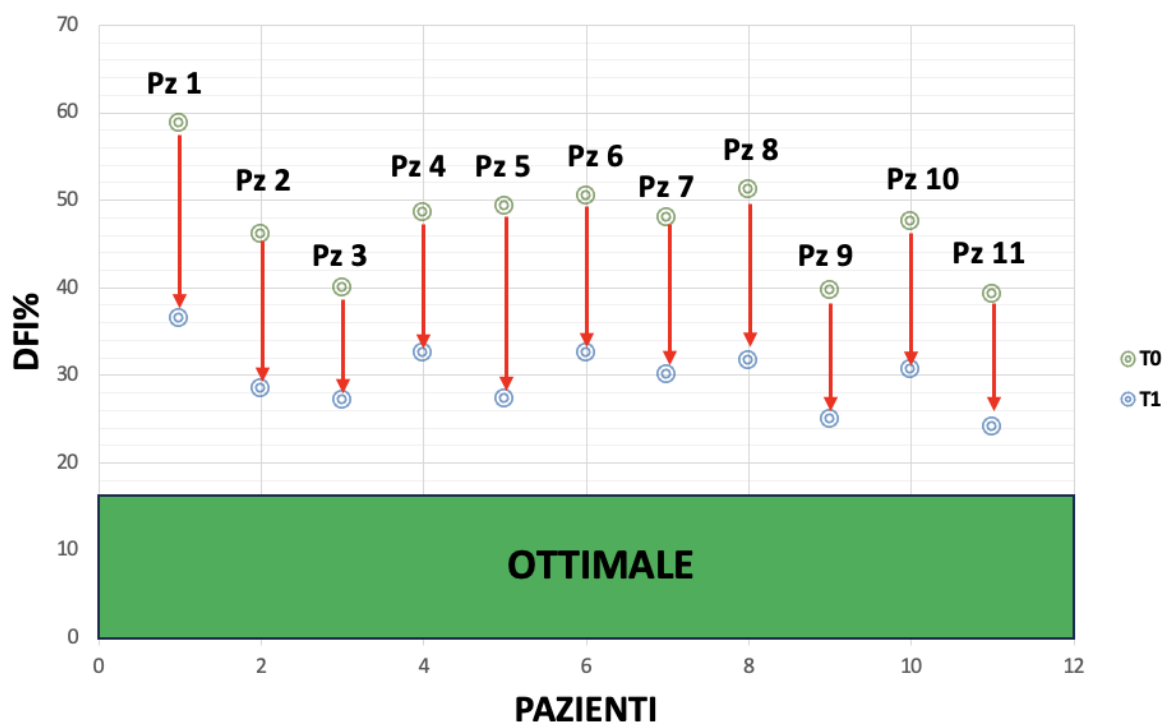
DrugText	cxy	cx	cy	c	Expected	OR	OR025	OR975	IC	IC025	IC975	PRR	PRR025	PRR975
Risankizumab	7	2703	40709	35161808	35,328	0,283	0,152	0,525	-1,771	-2,801	-1,014	0,283	0,152	0,526
Secukinumab	17	17484	40709	35161808	148,893	0,335	0,254	0,442	-1,565	-1,993	-1,193	0,335	0,254	0,442
Ixekizumab	13	32989	40709	35161808	38,193	0,340	0,197	0,585	-1,519	-2,409	-0,841	0,340	0,198	0,586
Ustekinumab	10	30514	40709	35161808	86,448	0,416	0,300	0,576	-1,252	-1,762	-0,820	0,416	0,300	0,577
Guselkumab	50	128604	40709	35161808	20,242	0,840	0,522	1,351	-0,245	-1,012	0,359	0,840	0,522	1,351
Tildrakizumab	2	1271	40709	35161808	1,472	1,360	0,340	5,443	0,343	-2,246	1,702	1,359	0,340	5,429
Brodalumab	36	74668	40709	35161808	3,129	2,240	1,067	4,704	1,047	-0,213	1,921	2,237	1,067	4,688

Dai dati ottenuti Tidrakizumab e Brodalumab erano un fattore di rischio per la disfunzione erettile, mentre Risankizumab, seguito da Secukinumab e Ixekizumab, era protettivo per la disfunzione erettile.

### 3.13 Valutazione della frammentazione del DNA spermatico pre e post trattamento con risankizumab.

Alla luce dei dati di efficacia e prevenzione della disfunzione erettile sono stati trattati 11 pazienti naive (vedi 3.9) con risankizumab valutando pre e post terapia (16 settimane) il DFI (Figura 15).

**Figura 15.** Monitoraggio della DFI pre e post terapia con risankizumab



\*I Risultati di DFI sono stati ottenuti con il solo farmaco senza correggere le abitudini del paziente

Tutti i pazienti hanno migliorato il DFI in modo statisticamente significativo ( $p < 0,001$ ) e 6 pazienti sono rientrati entro i limiti di accettabilità del DFI.

### 3.14 Creazione di una proposta di PDTA incentrato su psoriasi moderata-grave e desiderio di paternità

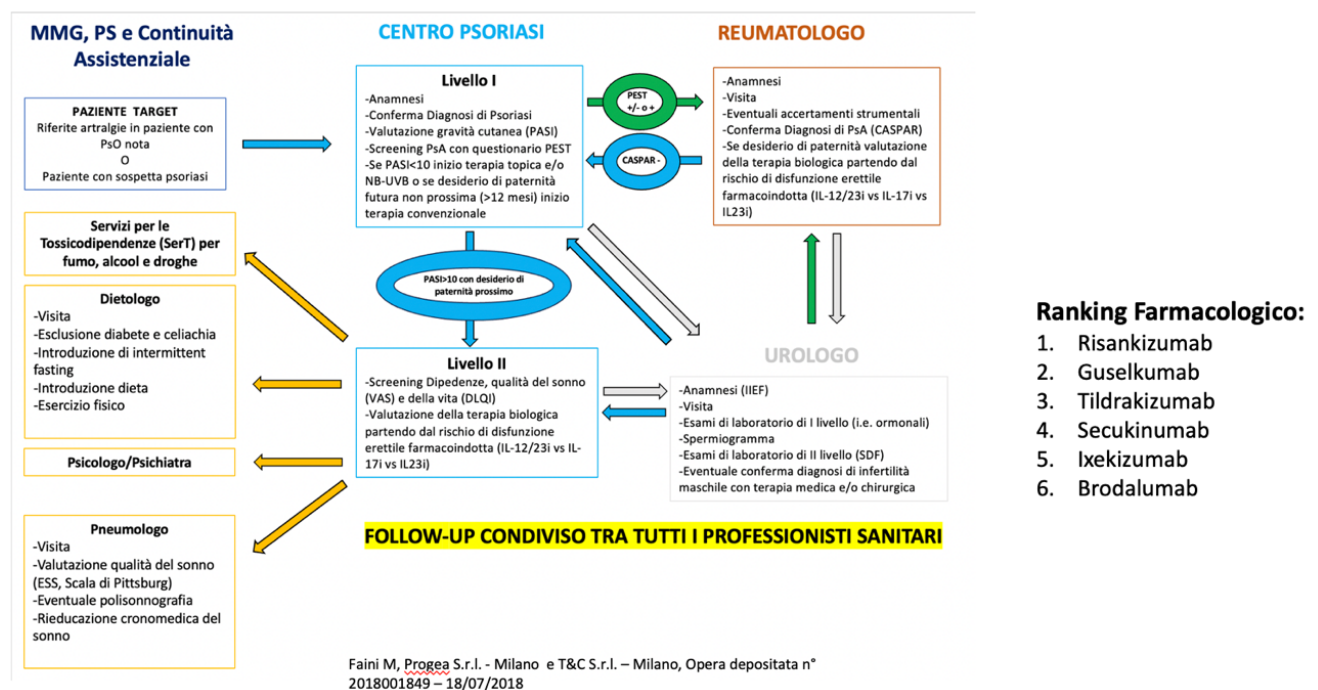
Dopo una attenta valutazione dei PDTA incentrati sulla psoriasi presenti in Italia, è stato abbozzato un PDTA per i pazienti con psoriasi e desiderio di paternità che devono iniziare una terapia biologica (Figura 16).



Siccome l'evoluzione ad artrite psoriasica rappresenta il maggior fattore di rischio per lo sviluppo di infertilità maschile i pazienti con PASI>30, psoriasi inversa, psoriasi ungueale, obesità e fumo di sigaretta sono considerati ad alto rischio e pertanto si suggerisce il trattamento con IL-23. Per gli altri pazienti a basso rischio si suggerisce il trattamento con IL-17 inibitori e solo in seconda istanza con anti-TNF. Nei pazienti con PASI >10 di sesso maschile e desiderio di paternità che stanno cercando un figlio sono assolutamente sconsigliati farmaci come il metotressato, acitretina, sono controindicazioni relative apremilast e fumarato. Il questionario di screening per l'artrite (PEST) è consigliato ogni 6 mesi.

**Figura 16.** Piano Diagnostico Terapeutico Assistenziale per pazienti con psoriasi e desiderio di paternità.

### Piano Diagnostico Terapeutico Assistenziale (PDTA)



Da notare che i risultati ottenuti sono stati validati unicamente in una popolazione caucasica; pertanto mi prefiggo di validare questa ricerca anche in popolazioni non caucasiche (asiatiche ed africane).

#### 4.0 CONCLUSIONI

La natura infiammatoria sistemica della psoriasi determina una pletora di comorbidità che coinvolgono virtualmente tutti i sistemi e gli apparati del corpo umano. Sebbene l'apparato riproduttivo maschile fosse poco indagato in ambito dermatologico, questa tesi ha delineato tre principali aspetti riguardanti l'infertilità maschile in pazienti con psoriasi moderata grave:

- I pazienti con PASI>10 non trattati con farmaco sistemico con desiderio di paternità devono iniziare una terapia sistemica per la psoriasi e per aumentare la funzionalità degli spermatozoi;
- I pazienti in trattamento con farmaco biologico e desiderio di paternità non devono discontinuare tale farmaco anche se prendono parte a pratiche di PMA in quanto a) diminuiscono la funzionalità degli spermatozoi, b) potrebbero sviluppare artrite psoriasica per infertilità maschile;
- Gli IL-23 inibitori sono efficaci sulla psoriasi, ma alcuni di questi possono dare disfunzione erettile, pertanto preferire il risankizumab, protettivo per la disfunzione erettile e migliorativo su DFI elevate.

Accanto alle acquisizioni in campo patogenetico è stato possibile delineare una disinformazione elevata in materia di fertilità maschile da parte dei pazienti con psoriasi candidati al biologico e con desiderio di paternità, ma anche da parte delle segreterie dei centri di PMA. Pertanto, sul versante pazienti sono già stati pianificati alcuni incontri informativi, mentre sul piano dei centri di PMA la strategia è quella di a) aumentare le evidenze in letteratura, b) aprire un ambulatorio condiviso con urologi con cadenza mensile per discutere insieme la terapia dei pazienti più annosi, c) la realizzazione di collaborazioni tra il CRC di Medicina di Precisione e Infiammazione cronica che presiede e la Società Italiana di Fertilità e Sterilità (SIFES).

La valutazione delle varianti della subunità p19 della IL-23 apre il campo della medicina di precisione anche in dermatologia portando un valore aggiunto sia per l'SSN che per i pazienti in un'ottica di farmacoeconomia e farmacogenetica. In linea con questo concetto AIFA, EMA e FDA hanno varato una politica *biomarker-oriented* rispettosa delle caratteristiche individuali del paziente (endotipo: clinica+laboratorio+omics) al fine di minimizzare gli effetti collaterali massimizzando il beneficio del farmaco.

Pertanto, coerentemente con i risultati acquisiti in questo dottorato, con le politiche sanitarie attuali, ho delineato una proposta di Piano Diagnostico Terapeutico Assistenziale che possa essere d'aiuto per gestire in modo *evidence-based medicine oriented*, multidisciplinare, ripetibile, efficiente la terapia dei pazienti con psoriasi moderata grave e desiderio di paternità. Ho voluto puntare sul *referral* territoriale, standardizzandolo e rendendolo più snello, ipotizzando un centro psoriasi su due livelli in stretta comunicazione con la reumatologia e l'urologia. Di fondamentale importanza, di concerto alla letteratura in materia di infertilità maschile, sono le correzioni del life style che costituisce fattore di rischio sia per la psoriasi che per l'infertilità maschile (i.e. tabagismo, alcolismo, obesità e disturbi del sonno).

Nel prossimo futuro mi propongo di continuare questo filone di ricerca in collaborazione con la Prof.ssa Buja, per definire maggiormente i meccanismi immunologici alla base dell'infertilità maschile psoriasi-indotta.