

## MNESYS: Fattori genetici, non-genetici ed esiti di trattamento nei disturbi mentali

### Premessa

I disturbi psichiatrici incidono profondamente sulla salute e sul funzionamento socio-lavorativo degli individui che ne sono affetti e sono largamente diffusi, avendo interessato 970 milioni di persone nel mondo nel 2019; sono di conseguenza un'importante causa di disabilità, considerando anche che sono responsabili di 125,3 milioni di anni vissuti con disabilità a livello globale nel 2019, classificandosi tra le prime 10 cause di disabilità ("Global, regional, and national burden of 12 mental disorders in 204 countries and territories, 1990–2019," 2022). Tra questi, i disturbi dell'umore e quelli psicotici, come la schizofrenia, rivestono un ruolo centrale per la loro prevalenza e il loro impatto clinico. Questi disturbi psichiatrici sono caratterizzati da un'origine multifattoriale e poligenica. Studi condotti su gemelli e famiglie hanno dimostrato che questi disturbi psichiatrici presentano una significativa componente ereditaria, che oscilla tra il 40 e l'80% (Owen et al., 2016) (Sullivan et al., 2000).

I disturbi dell'umore si caratterizzano per alterazioni abnormi dello stato affettivo, sia in senso depressivo che euforico/maniacale, che possono durare poche settimane o cronicizzarsi e perdurare nel tempo. In particolare, il disturbo depressivo maggiore ha una prevalenza nel corso della vita di circa il 15%, rappresentando una delle patologie psichiatriche più frequenti (Malhi and Mann, 2018). Anche nei casi più favorevoli, le fasi di malattia tendono a ricorrere nel corso della vita dell'individuo affetto, con conseguenze sulla qualità di vita, il benessere ed il funzionamento socio-lavorativo. I disturbi psicotici, quali la schizofrenia, sono meno frequenti (prevalenza nel corso della vita di circa 1%), ma hanno un forte impatto sulla qualità di vita e sul funzionamento (Marder and Cannon, 2019), con un esordio che tende a presentarsi in età molto giovane, generalmente nella tarda adolescenza/prima età adulta.

Attualmente sono disponibili diverse terapie efficaci nel trattare i disturbi dell'umore e la schizofrenia, le quali hanno migliorato le condizioni e la qualità di vita di milioni di persone affette. Tuttavia, circa un terzo degli individui non risponde a una o più terapie psicofarmacologiche e tende ad avere un grado variabile di sintomi residui, con il rischio di cronicizzazione (De Carlo et al., 2016) (Marder and Cannon, 2019). La scelta delle terapie e degli specifici farmaci si fonda largamente sulla valutazione del singolo medico, fornendo in generale le linee guida indicazioni di massima. Di conseguenza, l'identificazione e validazione di marcatori predittivi di risposta che siano misurabili a livello del singolo paziente rappresenta un obiettivo di ricerca fondamentale ai fini dello sviluppo della psichiatria di precisione.

I fattori individuali che rappresentano potenziali predittori di risposta ai trattamenti includono le caratteristiche cliniche, le variabili ambientali e le variabili biologiche (o biomarcatori), tra cui per esempio i polimorfismi genetici a singolo nucleotide (SNP; varianti genetiche presenti in >1% della popolazione generale). Variabili cliniche che possono predire la risposta sono state suggerite, per esempio la gravità e la durata dei sintomi, l'esordio precoce, la presenza di malattie mediche generali concomitanti (Balestri et al., 2016).

Una porzione significativa della variabilità individuale nella risposta ai trattamenti è dovuta a fattori di tipo genetico (Pain et al., 2022). Nonostante studi precedenti si siano focalizzati sui determinanti genetici della risposta alle terapie farmacologiche, ad oggi i risultati che possono essere applicati nella pratica clinica per la predizione della risposta individuale al trattamento sono limitati. In particolare, varianti genetiche nei geni che codificano per enzimi epatici coinvolti nel metabolismo dei farmaci possono alterare il livello di funzionamento dell'enzima corrispondente, influenzando quindi il metabolismo dei farmaci corrispondenti. Varianti genetiche in tali enzimi, chiamati citocromi, sono quindi incluse in diverse linee guida internazionali, per il supporto della scelta del farmaco e del dosaggio, pur non essendo ancora chiaramente dimostrato il rapporto costo-efficacia nelle specifiche situazioni della pratica clinica, questione che, insieme ad altri ostacoli applicativi, sta limitando l'utilizzo di questi marcatori (Zanardi et al., 2021). Mancano ancora marcatori genetici validati in altre aree del genoma, e combinazioni più complesse di biomarcatori che possano riflettere la natura poligenica e multi-determinata della risposta.

Approcci innovativi in questo ambito consistono nell'utilizzo di punteggi poligenici (detti Polygenic Scores, PGS), che stimano l'effetto congiunto di tutte le varianti genetiche comuni di rischio o SNP lungo il genoma, e/o combinano l'effetto di SNP con altri fattori clinici ed ambientali (ad esempio, età di esordio, gravità

sintomatologica, comorbidità mediche o psichiatriche, stress, livello di supporto sociale, inquinamento) (Fanelli et al., 2021) (Fabbri et al., 2024) (Pisanu et al., 2024). L'integrazione di informazioni relative alla funzionalità di ogni SNP inclusa nel calcolo dei PGS può migliorare significativamente l'utilità dei PGS nella predizione di vari tratti complessi e malattie (Zheng et al., 2024). Questi approcci avanzati consentono di considerare non solo l'effetto complessivo di varianti genetiche di rischio o protettive, ma anche il contesto funzionale in cui queste varianti genetiche agiscono, fornendo una visione più completa e dettagliata della complessa base genetica dei disturbi psichiatrici. Queste annotazioni funzionali aiutano ad esempio a distinguere tra SNP probabilmente causali e SNPs non causali che si trovano in elevato Linkage Disequilibrium con essi, migliorando così l'accuratezza predittiva dei PGS (Zheng et al., 2024). Incorporando annotazioni funzionali, metodi come SBayesRC possono catturare meglio gli effetti causali degli SNPs (Zheng et al., 2024). Un'altra strategia che appare di particolare interesse, vista l'ampia correlazione tra i fattori di rischio genetico tra i principali disturbi psichiatrici (Romero et al., 2022), è quella di studiare i predittori di risposta al trattamento in modo trans-diagnostico, cioè trasversalmente a più disturbi psichiatrici e/o utilizzare PGS relativi a tratti fenotipici/dimensioni sintomatologiche associate a ridotta risposta al trattamento e che sono condivisi tra i disturbi dell'umore e psicotici, per studiare come le loro componenti genetiche possano modulare gli esiti del trattamento nelle diverse diagnosi.

Date tali premesse, appare dunque di notevole interesse indagare i fattori individuali associati alla risposta alle terapie psichiatriche, combinando marcatori biologici e genetici allo studio di fattori clinici ed ambientali. La conoscenza a priori di una probabile scarsa risposta in soggetti con profilo di rischio elevato consentirebbe al clinico di indirizzarsi verso trattamenti alternativi rispetto a quelli standard, come forme di psicoterapia individualizzate o molecole con differente profilo farmacologico. Ciò avrebbe importanti ricadute sul benessere individuale dei pazienti e dei loro famigliari, oltre a ridurre i costi individuali e sociali di un lungo trattamento basato su terapie sequenziali.

Oltre allo studio dei fattori genetici e non genetici che influenzano gli esiti di trattamento, l'esplorazione del ruolo delle varianti genetiche comuni o SNP, varianti rare (frequenza <1% nella popolazione generale) e *de novo* possono contribuire a una migliore comprensione dell'eziopatologia dei disturbi psicotici e dell'umore. Le varianti genetiche *de novo* sono mutazioni che si verificano spontaneamente senza essere ereditate dai genitori e sono state oggetto di studio nell'ambito della schizofrenia e del disturbo bipolare. Ricerche condotte tramite sequenziamento dell'esoma hanno evidenziato che le varianti *de novo* contribuiscono all'eziologia genetica della schizofrenia (Hoya et al., 2020). Inoltre, è emerso che vi è un'associazione di varianti *de novo* di tipo copy number variants (CNV) sia nella schizofrenia che nel disturbo bipolare rispetto ai controlli (Girirajan & Eichler, 2011). Studi su casi sporadici di schizofrenia hanno identificato varianti *de novo* in pazienti affetti da questa condizione (Ambalavanan et al., 2016).

Un altro aspetto innovativo è il possibile utilizzo di cellule MUSE (Multilineage Differentiating Stress Enduring Cells), prelevate attraverso biopsie cutanee, per sviluppare modelli cellulari in vitro che permettano lo studio delle alterazioni neuro-gliali (a carico di neuroni, astrociti e oligodendrociti) in condizioni patologiche come la schizofrenia e il disturbo bipolare. Le cellule MUSE sono un tipo di cellule staminali pluripotenti che mostrano tolleranza allo stress e possiedono la capacità di differenziarsi in cellule di tutti e tre gli strati germinali embrionali (Aprile et al., 2023; Kuroda et al., 2013). Gli studi hanno dimostrato che le cellule MUSE possono differenziarsi anche in cellule neuronali, il che le rende un candidato promettente per studiare le alterazioni dei neuroni glutammatergici, dopaminergici e serotoninergici in condizioni come la schizofrenia e il disturbo bipolare.

L'insieme di questi studi si inserisce in un quadro più ampio di ricerca sull'eziopatologia poligenica e multifattoriale dei disturbi psichiatrici, in cui l'interazione tra varianti genetiche, fattori ambientali e clinici contribuisce alla complessa manifestazione di queste patologie. Un'analisi combinata di queste varianti e dei loro effetti funzionali permetterà di ottenere una visione più completa della base genetica e molecolare di tali disturbi, avvicinando la pratica clinica a un modello di medicina sempre più personalizzata e precisa.

### **Scopo del lavoro**

Il campo di interesse e di attività specifico del beneficiario dell'assegno di ricerca sarà lo Spoke 5 "Mood and Psychosis" del progetto MNESYS - "A Multiscale integrated approach to the study of the NErvous SYStem in health and disease" (PE0000006). Il progetto beneficia di fondi del Piano Nazionale di Ripresa e Resilienza

(PNRR) stanziati dal Ministero dell'università e della Ricerca (DN. 1553 11.10.2022). MNESYS si articola su vari ambiti inerenti allo studio del Sistema Nervoso Centrale sia in condizioni di salute sia di malattia. Lo Spoke 5 di MNESYS, in cui il beneficiario dell'assegno di ricerca presso l'Università di Bologna sarà coinvolto, ha l'obiettivo di chiarire le basi eziopatogenetiche e favorire una medicina di precisione dei disturbi dell'umore e delle psicosi. In particolare, il nostro gruppo di ricerca coordina le attività del Working Package 5 - "Pharmacogenetics for precision medicine in mood and psychotic disorders" all'interno di MNESYS – Spoke 5 e ha come obiettivo principale lo studio dei fattori genetici e non-genetici associati agli esiti di trattamento (es., risposta o resistenza al trattamento, remissione, qualità della vita) nei disturbi dell'umore e psicotici al fine di permettere lo sviluppo di una medicina più personalizzata.

## Metodologia

### Campioni, analisi genetiche e statistica dei dati

I campioni disponibili per le analisi saranno quelli generate dal consorzio MNESYS SPOKE 5, aventi diagnosi di disturbo depressivo maggiore, schizofrenia o disturbo bipolare, più controlli sani. E' prevista l'analisi di campioni già reclutati, tra cui si menzionano quelli riportati in Tabella 1. L'assegnista potrà inoltre contribuire alla ricerca ed inclusione di ulteriori dati rilevanti che siano pubblici o comunque condivisibili tramite richiesta agli autori.

Le informazioni sociodemografiche, cliniche e genetiche saranno analizzate mediante appropriate procedure statistiche. Nello specifico, saranno svolte in analogia alle pubblicazioni citate nel paragrafo precedente, includenti analisi post-GWAS e PGS che tengano conto dell'impatto funzionale delle singole varianti geniche (es., calcolati mediante SBayesRC). L'analisi includerà inoltre la combinazione multivariata di predittori genetici e non genetici con l'utilizzo anche di metodi di machine learning, per sviluppare modelli predittivi di esiti di trattamento, inclusi la risposta o resistenza ai trattamenti psicofarmacologici.

Tabella 1: estratto dei campioni principali già reclutati

Diagnosi	Campione	Riferimenti bibliografici	Numerosità
Schizofrenia	CATIE	PMID: 28786528	480
D. bipolare	STEP-BD	PMID: 26297903	900
Depressione maggiore	GSRD	PMID: 31340696	1346
Depressione maggiore	STARD	PMID: 19846067	1163
Primo episodio psicotico	PICOS	PMID: 22794251	397

### *Valutazioni Cliniche*

I pazienti reclutati nello studio saranno sottoposti a una serie di valutazioni cliniche approfondite per caratterizzare il loro profilo psicopatologico e neurocognitivo. Le diagnosi saranno confermate secondo i criteri Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM)-5, utilizzando la Mini-International Neuropsychiatric Interview (MINI). Per la schizofrenia, ci concentreremo sulla valutazione dei sintomi negativi e positivi attraverso scale standardizzate come la Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) e la Brief Negative Symptom Scale (BNSS). Inoltre, esploreremo la sintomatologia depressiva e gli eventuali sintomi extrapiramidali, utilizzando rispettivamente la Calgary Depression Rating Scale e la St. Hans Rating Scale. Per tutti i pazienti sarà compilata una scheda clinica contenente i dati relativi all'età e alle modalità di esordio della malattia, al decorso della malattia e ai trattamenti effettuati. Per la compilazione della scheda saranno utilizzate tutte le fonti di informazione disponibili (paziente, familiari, cartelle cliniche e operatori della salute mentale). Tutti i partecipanti, inclusi i controlli sani, saranno sottoposti a valutazioni

neurocognitive usando la MATRICS Consensus Cognitive Battery, che esplora domini come l'attenzione, la memoria di lavoro e la cognizione sociale. Queste valutazioni forniranno un quadro completo delle caratteristiche cliniche e cognitive dei pazienti, permettendoci di esplorare le correlazioni con i marcatori genetici e altri biomarcatori rilevanti.

### **Percorso formativo e piano di attività**

La ricerca si svilupperà principalmente nelle seguenti attività:

- Reclutamento di pazienti con disturbo depressivo maggiore, disturbo bipolare, schizofrenia e controlli sani per lo sviluppo di modelli cellulari MUSE.
- Reclutamento di pazienti con disturbo depressivo maggiore, disturbo bipolare, schizofrenia e genitori sani per la ricerca di varianti genetiche comuni a singolo nucleotide, varianti rare e de novo che possono rappresentare fattori di rischio per i disturbi dell'umore e psicotici.
- Creazione, gestione, e controllo di qualità di nuovi database clinici.
- Farmacogenetica per la medicina di precisione nei disturbi dell'umore e psicotici.
- Identificazione di biomarcatori genetici e non genetici degli esiti del trattamento nei diversi disturbi.
- Creazione di modelli statistici avanzati che combinano predittori genetici e non genetici degli esiti di trattamento.
- Revisione e meta-analisi della precedente letteratura scientifica relativa ai fattori genetici e non genetici che influenzano esiti di trattamento nei disturbi dell'umore e psicotici.

L'assegnista sarà formato e guidato all'assessment diagnostico e a tutte le procedure valutative e di reclutamento del progetto, attraverso le competenze del tutor. Contemporaneamente saranno effettuate analisi dei dati utilizzando le competenze statistiche su supervisione del tutor; in particolare verranno allestiti nuovi database e utilizzati altri database esistenti, utilizzati i programmi atti all'elaborazione dei dati raccolti (quali SPSS, Jamovi, JASP, R, Plink, SBayesRC, ecc.), seguendo modelli statistici classici e specifici per l'analisi di variabili genetiche sopracitati.

L'assegnista sarà inoltre ulteriormente formato, sempre presso l'Università di Bologna, nella stesura di articoli scientifici, con verifica delle capacità acquisite nella valutazione dei risultati sperimentali conseguiti e discussione di tali risultati (confronto con la letteratura internazionale). Sarà valorizzata la partecipazione a congressi nazionali e internazionali con presentazione dei risultati ottenuti.

## Bibliografia

- Ambalavanan, A., Girard, S. L., Ahn, K., Zhou, S., Dionne-Laporte, A., Spiegelman, D., Bourassa, C. V., Gauthier, J., Hamdan, F. F., Xiong, L., Dion, P. A., Joobor, R., Rapoport, J., & Rouleau, G. A. (2016). De novo variants in sporadic cases of childhood onset schizophrenia. *European Journal of Human Genetics: EJHG*, 24(6), 944–948. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2015.218>
- Aprile, D., Alessio, N., Squillaro, T., Di Bernardo, G., Peluso, G., & Galderisi, U. (2023). Role of glycosphingolipid SSEA-3 and FGF2 in the stemness and lineage commitment of multilineage differentiating stress enduring (MUSE) cells. *Cell Proliferation*, 56(1), e13345. <https://doi.org/10.1111/cpr.13345>
- Balestri, M., Calati, R., Souery, D., Kautzky, A., Kasper, S., Montgomery, S., Zohar, J., Mendlewicz, J., Serretti, A., 2016. Socio-demographic and clinical predictors of treatment resistant depression: A prospective European multicenter study. *J Affect Disord* 189, 224–232. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2015.09.033>
- De Carlo, V., Calati, R., Serretti, A., 2016. Socio-demographic and clinical predictors of non-response/non-remission in treatment resistant depressed patients: A systematic review. *Psychiatry Res* 240, 421–430. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2016.04.034>
- Fabbri, C., Lewis, C.M., Serretti, A., 2024. Polygenic risk scores for mood and related disorders and environmental factors: Interaction effects on wellbeing in the UK biobank. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 132, 110972. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2024.110972>
- Fanelli, G., Benedetti, F., Kasper, S., Zohar, J., Souery, D., Montgomery, S., Albani, D., Forloni, G., Ferentinos, P., Rujescu, D., Mendlewicz, J., Serretti, A., Fabbri, C., 2021. Higher polygenic risk scores for schizophrenia may be suggestive of treatment non-response in major depressive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 108, 110170. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2020.110170>
- Girirajan, S., & Eichler, E. E. (2011). De novo CNVs in bipolar disorder: Recurrent themes or new directions? *Neuron*, 72(6), 885–887. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.12.008>
- Global, regional, and national burden of 12 mental disorders in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019, 2022. *The Lancet Psychiatry* 9, 137–150. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(21\)00395-3](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(21)00395-3)
- Hoya, S., Watanabe, Y., Nunokawa, A., Otsuka, I., Shibuya, M., Igeta, H., Hishimoto, A., & Someya, T. (2020). Whole-exome sequencing in a family with a monozygotic twin pair concordant for schizophrenia and a follow-up case-control study of identified de-novo variants. *Psychiatric Genetics*, 30(2), 60–63. <https://doi.org/10.1097/YPG.0000000000000250>
- Kuroda, Y., Wakao, S., Kitada, M., Murakami, T., Nojima, M., & Dezawa, M. (2013). Isolation, culture and evaluation of multilineage-differentiating stress-enduring (Muse) cells. *Nature Protocols*, 8(7), 1391–1415. <https://doi.org/10.1038/nprot.2013.076>
- Owen, M. J., Sawa, A., & Mortensen, P. B. (2016). Schizophrenia. *The Lancet*, 388(10039), 86–97. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)01121-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)01121-6)
- Malhi, G.S., Mann, J.J., 2018. Depression. *The Lancet* 392, 2299–2312. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31948-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31948-2)
- Marder, S.R., Cannon, T.D., 2019. Schizophrenia. *N Engl J Med* 381, 1753–1761. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1808803>

Pain, O., Hodgson, K., Trubetskoy, V., Ripke, S., Marshe, V.S., Adams, M.J., et al., 2022. Identifying the Common Genetic Basis of Antidepressant Response. *Biological Psychiatry Global Open Science* 2, 115–126. <https://doi.org/10.1016/j.bpsgos.2021.07.008>

Pisanu, C., Severino, G., Minelli, A., Dierssen, M., Potier, M.-C., Fabbri, C., Serretti, A., Gennarelli, M., Baune, B.T., Squassina, A., 2024. Biomarkers of treatment-resistant schizophrenia: A systematic review. *Neuroscience Applied* 3, 104059. <https://doi.org/10.1016/j.nsa.2024.104059>

Romero, C., Werme, J., Jansen, P.R., Gelernter, J., Stein, M.B., Levey, D., Polimanti, R., de Leeuw, C., Posthuma, D., Nagel, M., van der Sluis, S., 2022. Exploring the genetic overlap between twelve psychiatric disorders. *Nat Genet* 54, 1795–1802. <https://doi.org/10.1038/s41588-022-01245-2>

Sullivan, P. F., Neale, M. C., & Kendler, K. S. (2000). Genetic Epidemiology of Major Depression: Review and Meta-Analysis. *American Journal of Psychiatry*, 157(10), 1552–1562. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.157.10.1552>

Zanardi, R., Manfredi, E., Montrasio, C., Colombo, C., Serretti, A., Fabbri, C., 2021. Pharmacogenetic-Guided Treatment of Depression: Real-World Clinical Applications, Challenges, and Perspectives. *Clin Pharmacol Ther* 110, 573–581. <https://doi.org/10.1002/cpt.2315>

Zheng, Z., Liu, S., Sidorenko, J., Wang, Y., Lin, T., Yengo, L., Turley, P., Ani, A., Wang, R., Nolte, I. M., Snieder, H., Lifelines Cohort Study, Aguirre-Gamboa, R., Deelen, P., Franke, L., Kuivenhoven, J. A., Lopera Maya, E. A., Sanna, S., Swertz, M. A., ... Zeng, J. (2024). Leveraging functional genomic annotations and genome coverage to improve polygenic prediction of complex traits within and between ancestries. *Nature Genetics*, 56(5), 767–777. <https://doi.org/10.1038/s41588-024-01704-y>