

Titolo Divulgativo

Studiare una malattia rara per comprendere la fragilità ossea

Titolo Scientifico

Osteogenesi Imperfetta: uno studio epidemiologico in un'ampia coorte di pazienti italiani

Organizzazioni coinvolte

1. SC Malattie Rare Scheletriche, IRCCS Istituto Ortopedico Rizzoli - IOR
2. Fondazione Istituto Italiano di Tecnologia - IIT

Responsabile

Luca Sangiorgi¹

Staff progettuale

Marina Mordenti¹

Manila Boarini¹

Federico Banchelli¹

Andrea Cavalli²

Sergio Decherchi²

Introduzione

L'Osteogenesi Imperfetta (OI) è una malattia scheletrica rara ereditaria [1]. Le principali manifestazioni sono fratture ricorrenti, deformità ossee e bassa statura. Spesso si riscontrano manifestazioni extra-scheletriche, come iperlassità articolare, colorazione delle sclere, dentinogenesi imperfetta (DI), disturbi dell'udito, motivo per cui la cura dei pazienti con OI richiede un approccio multidisciplinare [1].

La presentazione dell'OI è caratterizzata da un'ampia variabilità con manifestazioni cliniche che vanno da segni lievi a forme gravi. Nel 1979 Sillence propose una classificazione basata su evidenze cliniche e radiografiche [2]. La forma più frequente e lieve di OI è il tipo I caratterizzato da fragilità ossea, sclere blu e assenza di deformità. L'OI di tipo II (letale) rappresenta la forma più grave con fratture multiple durante la vita intrauterina o alla nascita. I pazienti di tipo III hanno fratture, deformità ossee progressive, sclere normali e frequentemente DI. I pazienti con OI di tipo IV presentano una gravità intermedia tra il tipo I e III, con deformità progressive degli arti e della colonna.

Il background genetico è altamente eterogeneo, con ereditarietà sia dominante che recessiva. La maggior parte dei pazienti OI presenta varianti patogeniche nei geni COL1A1/COL1A2, che codificano rispettivamente per le catene alfa 1 e 2 del collagene I [3]. Ad oggi, è stato inoltre descritto un vasto gruppo di geni non collagenici, che causano principalmente la forma autosomica recessiva della malattia [1,4].

L'obiettivo del progetto è stato l'investigazione, tramite strumenti di analisi dei dati e di intelligenza artificiale, dei dati multimodali raccolti in 16 anni nel Registro dell'OI al fine di descrivere accuratamente una vasta coorte di pazienti italiani, così da innovare e velocizzare il percorso diagnostico e personalizzare la cura. Questa esperienza sull'OI potrà fungere da modello da applicare ad altre patologie caratterizzate da fragilità ossea, come l'osteoporosi post-menopausale.

Metodi

Questo studio trasversale coinvolge una coorte di pazienti italiani con OI presi in carico allo IOR dal 2006 al 2021. Quando possibile, è stato definito il tipo secondo la classificazione di Sillence. I dati risiedono in una piattaforma digitale, che rappresenta il Registro dell'Osteogenesi Imperfetta (ROI - NCT04115774). Il ROI ha permesso di ottenere un database dettagliato comprendente informazioni antropometriche, caratteristiche scheletriche, manifestazioni extra-scheletriche e background genetico.

Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico di Area Vasta Emilia Centro nel 2021.

I dati sono stati analizzati tramite analisi statistiche e metodi di intelligenza artificiale.

Risultati e discussione delle analisi epidemiologiche

Lo studio è stato effettuato su una corte di 568 pazienti con età media di 22 anni [5]. I pazienti sono stati classificati in Tipo I (54,6%), Tipo III (5,5%), Tipo IV (10,4%), Tipo V (0,4%). Non è stato possibile assegnare il tipo di OI nel 29% dei pazienti, a causa di manifestazioni atipiche o dell'età molto giovane. La distribuzione per tipologia di OI è in linea con la letteratura [6], con una grande maggioranza di OI di tipo I, seguiti dal tipo IV, III e V.

I soggetti erano quasi equamente distribuiti tra femmine (53,5%) e maschi, anche se tale dato è dibattuto in letteratura con differenti rapporti M/F [6].

L'altezza presenta z-score medi pari a -1,54 nei maschi e -1,47 nelle femmine rispetto alla popolazione italiana. Il gruppo OI di tipo I ha mostrato uno z-score pari a -0,89, mentre i tipi III, IV e V presentano z-score pari a -4,89, -2,77 e -2,74, rispettivamente. Il BMI ha evidenziato che il 58,9% dei pazienti è di peso normale, anche se i pazienti in sovrappeso e obesi rappresentano quasi il 26,7%. Il BMI normopeso è risultato meno frequente nei tipi III e IV (45,5% e 40,8%). L'altezza è decisamente inferiore alla media nazionale, mentre il BMI si discosta in misura ridotta dalla media italiana [6,7].

Metà della popolazione presentava una o più deformità, la maggior parte a carico del tronco (45,6%), compromettendo principalmente la colonna vertebrale in termini di scoliosi, cifosi e lordosi (rispettivamente 162, 54, 17 soggetti), seguiti da deformità degli arti inferiori (15,5%) e degli arti superiori (5,8%). Tali valori sono in linea coi dati presenti in letteratura [9]. I tipi III, IV hanno mostrato un maggiore coinvolgimento del tronco (83,9%, 67,8% e 100%). Sono state rilevate limitazioni funzionali nel 2,7% dei soggetti, a carico delle ossa lunghe degli arti e della pelvi.

Caratteristiche scheletriche

Una manifestazione tipica dell'OI è la presenza di fratture multiple. Il 71,3% dei pazienti aveva subito un numero relativamente basso di fratture (1-4 e 5-10), sebbene 16 pazienti riportassero più di 30 fratture nella loro storia clinica. In 10 pazienti sono state osservati crolli vertebrali.

È stata identificata la presenza di osteopenia o osteoporosi in circa il 40% della coorte ed una maggiore presenza di osteoporosi nel tipo III-IV. Tali valori sono leggermente inferiori a quelli descritti in letteratura [8].

Caratteristiche extra-scheletriche

Relativamente alle manifestazioni extra-scheletriche, un alterato colore della sclera è stato identificato in circa l'80% dei pazienti, con una maggiore presenza di sclere blu rispetto alle altre colorazioni (65% vs 13,9%). Inoltre, le sclere colorate erano più presenti nell'OI di tipo I (85,1%) rispetto al tipo III (61,3%). Il deficit uditivo era presente nel 17,1% dei pazienti [1].

La presenza di valvulopatie cardiache è stata segnalata nell'11,8% dei pazienti e la maggior parte dei casi riguardava la valvola mitrale. L'incidenza delle valvulopatie era maggiore nelle donne rispetto agli uomini (14,1% e 9,1%), in linea con studi simili [9].

Il 19,2% dei pazienti presentava difetti dentali, in termini di DI (15,7%) o altre anomalie dentali (9,2%); con una maggiore presenza di difetti nell'OI di tipo III (45,2%) rispetto al tipo IV (32,2%) e al tipo I (15,8%), risultati sovrapponibili ad altri studi [10].

L'iperlassità articolare è stata segnalata nel 38,2% dei pazienti rappresentando una delle manifestazioni extra-scheletriche più comuni nei pazienti con OI, con valori leggermente inferiori ai dati di letteratura [8].

Ereditarietà e background genetico

L'ereditarietà era disponibile per metà della popolazione (53%) e il 35,9% aveva una familiarità positiva, in linea con la letteratura [6], anche se alcuni studi hanno mostrato valori più elevati [11].

Sono state identificate varianti causative nel 79,6% dei pazienti, valore leggermente superiore ai dati di letteratura [1,11]. Nei restanti soggetti l'alterazione molecolare non è stata rilevata, nonostante la diagnosi clinica di OI.

Le varianti in COL1A1 e COL1A2 sono le alterazioni più comunemente rilevate (rispettivamente 71,6% e 25,6%); tuttavia, varianti nei geni non collagenici sono state riscontrate nel 2,7% dei pazienti.

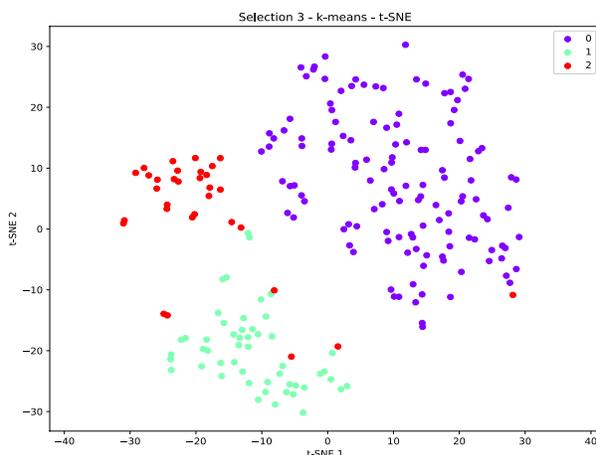
Risultati e discussione delle analisi di machine learning

Questa indagine effettuata su 443 pazienti mirava a comprendere la possibilità di creare gruppi omogenei di pazienti e la capacità di predire il tipo di appartenenza dei pazienti a partire dai dati raccolti. Questa attività è stata svolta analizzando l'intero database, o stratificando i soli pazienti adulti e i soggetti in cui è stata rilevata una variante patogenica sui geni COL1A1/COL1A2 [12].

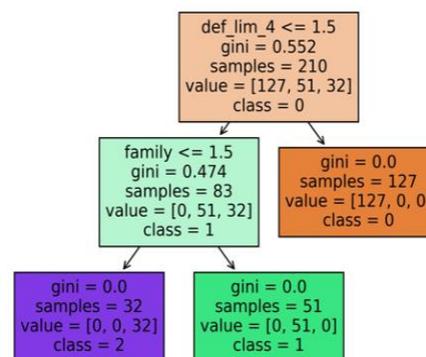
Stratificazione dei soli pazienti adulti

I pazienti sono stati raggruppati utilizzando l'algoritmo k-means. I 3 clusters visibili nella figura sono definiti sulla base delle regole esposte nell'albero di classificazione riportato a fianco: il gruppo "0" è caratterizzato da pazienti con deformità/limitazioni al tronco ($def_lim_4 > 1.5$), il gruppo "1" include pazienti senza deformità/limitazioni al tronco ($def_lim_4 \leq 1.5$) e con familiarità positiva ($family > 1.5$). Il gruppo "2" rappresenta i pazienti senza deformità/limitazioni al tronco ($def_lim_4 \leq 1.5$), ma che hanno familiarità con OI assente o sporadica ($family \leq 1.5$).

In linea con quanto emerso dalle indagini statistiche tradizionali, limitazioni/deformità al tronco rappresentano una variabile importante per la clusterizzazione dei pazienti adulti. In questa prima stratificazione, emerge un ruolo classificatorio della familiarità nel caso di assenza di limitazioni/deformità al tronco.



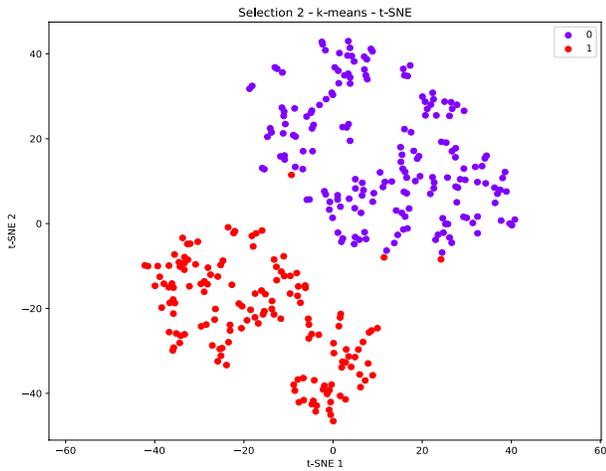
Proiezione bidimensionale dei cluster tramite t-SNE



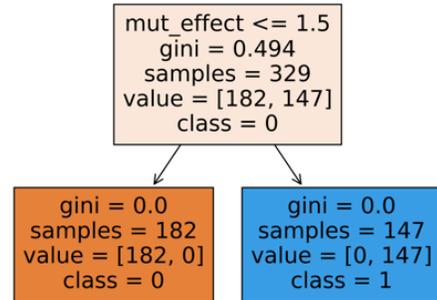
Albero di classificazione sulle classi indotte da k-means

Stratificazione pazienti COL1A1 e COL1A2 positivi

Anche in questo caso i pazienti sono stati raggruppati utilizzando il metodo di clustering k-means. Come emerge dalla figura, i pazienti sono raggruppati in due gruppi ben distinti. Questi sono dovuti alla variabile "mutation effect" e, come mostrato dall'albero di classificazione, i pazienti del gruppo "0" sono quelli con una mutazione di tipo qualitativo ($mut_effect \leq 1.5$), mentre quelli della classe "1" con mutazione di tipo quantitativo ($mut_effect > 1.5$). Il fatto che questa clusterizzazione si basi sull'effetto della mutazione denota un evidente impatto in termini di funzionalità e quindi di potenziale fenotipo [13].



Albero di classificazione sulle classi indotte da k-means



Proiezione bidimensionale dei cluster tramite t-SNE

Predizione della classe di appartenenza

Lo scopo di questa analisi è comprendere quali tipi di OI vengano effettivamente “compresi” dagli algoritmi di machine learning. È sia una modalità di classificazione automatica dei pazienti a partire dalle osservazioni cliniche, sia un modo indiretto per controllare robustezza, consistenza e riproducibilità delle classificazioni cliniche a partire dai dati disponibili. Le tabelle mostrano le performance dei tre algoritmi utilizzati nel classificare i pazienti con OI di tipo I vs. tipo III e quelli di tipo I vs. tipo IV. Gli algoritmi riescono con più facilità a distinguere i pazienti di tipo I da quelli di tipo III, rispetto al caso I contro IV.

Tabella 3: OI tipo I vs tipo III

Metodi	OI tipo I vs tipo III
	Acc. Bilanciata
Elastic net	0.76
SVM lineare	0.89
Random forest	0.70

Tabella 4: OI tipo I vs tipo IV

Metodi	OI tipo I vs tipo IV
	Acc. Bilanciata
Elastic net	0.73
SVM lineare	0.68
Random forest	0.67

L'approccio supervisionato ha mostrato risultati interessanti identificando con approcci diversi i fattori a seguire:

Confronto OI tipo I vs. OI tipo III:

- Altezza
- Peso
- Mutazione causative
- Familiarità per OI

Confronto OI tipo I vs. OI tipo IV

- Altezza
- Numero di Fratture
- Età
- Bozze Frontali
- Dentinogenesi imperfetta
- Peso

- Deformità riguardanti il tronco

Dato che l'OI di tipo IV ha una manifestazione clinica intermedia tra tipo I e tipo III, in questa seconda analisi l'accuratezza si riduce, poiché la distinzione tra i tipi di OI è più complessa, a causa di una sintomatologia più simile.

Conclusioni

In conclusione, le analisi eseguite, sebbene con approcci differenti, portano a risultati sostanzialmente sovrapponibili. La fragilità ossea risulta un parametro cruciale da investigare per un'accurata valutazione e presa in carico del paziente. Inoltre, il background genetico ha un ruolo di supporto al processo diagnostico, aumentandone in parte l'accuratezza.

Tutte le indagini effettuate evidenziano la complessità ed eterogeneità di questa patologia sia per quel che concerne le manifestazioni cliniche, sia per la componente genetica, sottolineando quindi il complesso lavoro del clinico nel valutare e nel bilanciare i differenti segni e sintomi riscontrati per l'individuazione puntuale del tipo di OI.

Bibliografia

1. Lindahl et al. (2015). Genetic epidemiology, prevalence, and genotype-phenotype correlations in the Swedish population with osteogenesis imperfecta. *EJHG*.
2. Sillence et al. (1979). Genetic heterogeneity in osteogenesis imperfecta. *JMG*.
3. Marini et al. (2007). Consortium for osteogenesis imperfecta mutations in the helical domain of type I collagen: regions rich in lethal mutations align with collagen binding sites for integrins and proteoglycans. *Hum Mut*.
4. Marini & Dang Do (2020). Osteogenesis Imperfecta. In K. R. Feingold (Eds.) et. al.,
5. Mordenti et al. (2023) Osteogenesis Imperfecta: a cross-sectional study of skeletal and extra-skeletal features in a large cohort of Italian patients. *Front Endocrinol*.
6. Li, et al. (2020). Genotypic and Phenotypic Analysis in Chinese Cohort With Autosomal Recessive Osteogenesis Imperfecta. *Front Genet*.
7. Cacciari et al. (2006). Italian cross-sectional growth charts for height, weight and BMI (2 to 20 yr). *J Endocrinol Invest*.
8. Li et al. (2019). Genotype-phenotype relationship in a large cohort of osteogenesis imperfecta patients with COL1A1 mutations revealed by a new scoring system. *Chinese Med J*.
9. Folkestad et al. (2016). Cardiovascular disease in patients with osteogenesis imperfecta - a nationwide, register-based cohort study. *Int J Cardiol*.
10. Hald et al. (2018). Osteogenesis imperfecta and the teeth, eyes, and ears-a study of non-skeletal phenotypes in adults. *Osteoporosis Int*.
11. Ohata et al. (2019). Comprehensive genetic analyses using targeted next-generation sequencing and genotype-phenotype correlations in 53 Japanese patients with osteogenesis imperfecta. *Osteoporosis Int*.
12. Decherchi et al. (2021). Opportunities and Challenges for Machine Learning in Rare Diseases. *Front Med*.
13. Maioli et al. (2019). Genotype-phenotype correlation study in 364 osteogenesis imperfecta Italian patients. *EJHG*.