

STUDIO DI VALIDAZIONE DELLA DIAGNOSI DELLA SINDROME DI IDIC(15)

Coordinatore dello studio: Dr. Ettore Beghi

Laboratorio di Malattie Neurologiche, Dipartimento di Neuroscienze,
Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri IRCCS, Milano, Italia

RELAZIONE FINALE

Disegno e scopi dello studio

La sindrome idic(15), o tetrasomia 15q, è una malattia ereditaria rara caratterizzata da un fenotipo aspecifico, eterogeneità clinica e un ampio spettro di gravità. Sebbene siano stati compiuti dei tentativi per identificare le caratteristiche cliniche comuni (ipotonia, ritardo nello sviluppo/disabilità intellettiva, comportamento autistico ed epilessia) (Battaglia 2008), non si è ancora arrivati ad una formale caratterizzazione della malattia che miri ad individuare gruppi di segni, sintomi ed esami strumentali che potrebbero essere usati nella diagnosi differenziale con altri disordini del neurosviluppo caratterizzati da ritardo mentale, disabilità intellettiva e comportamento alterato.

Il contributo alla diagnosi di singoli segni e/o sintomi e le loro combinazioni potrebbero non solo favorire una diagnosi precoce di sindrome di idic(15) ma potrebbero anche aiutare nel definire correlazioni genotipo-fenotipo ed essere dei riferimenti validi per gli studi epidemiologici.

In questo studio abbiamo pensato di validare la diagnosi formulata da neuropsichiatri infantili sulla base di segni, sintomi e caratteristiche evidenziate dagli esami strumentali comparando un gruppo di pazienti di diversa età e sesso con diagnosi confermata di sindrome di idic(15) con pazienti considerati nella diagnosi differenziale aventi disabilità intellettiva, disturbi funzionali e anomalie nel comportamento in varie combinazioni.

Obiettivi specifici includono:

1. L'identificazione di segni, sintomi ed esami strumentali, singolarmente o in varie combinazioni, che favoriscano la diagnosi di sindrome di idic(15);
2. La correlazione dei dati clinici e strumentali con la diagnosi;
3. La caratterizzazione della diagnosi di sindrome di idic(15);
4. Verificare se l'epilessia può essere un marker della patologia.

L'obiettivo primario dello studio era l'identificazione dei sintomi, segni ed esami strumentali, singolarmente o in varie combinazioni, comparando pazienti con sindrome di idic(15) con pazienti con disturbi che rientrano nella diagnosi differenziale. L'ipotesi infatti era che la sindrome di idic(15) possa differire da altri disordini nel neurosviluppo in un numero di segni e sintomi le cui combinazioni definiscano un peculiare fenotipo clinico.

Un altro scopo importante era quello di verificare se diversi esperti riuscissero ad individuare segni e sintomi in modo omogeneo ed obiettivo.

Metodi

La popolazione in studio consisteva in 25 pazienti di tutte le età ed entrambi i sessi con diagnosi di sindrome di idic(15) (i casi) e in 25 pazienti (i controlli) con altre patologie che ricadevano nella diagnosi differenziale.

La diagnosi differenziale comprendeva altri disturbi del neurosviluppo caratterizzati da disabilità intellettuale, autismo, comportamento anormale, disturbi funzionali. La diagnosi di ogni condizione clinica (gold standard) è stata formulata dai neuropsichiatri infantili che avevano in carico i pazienti arruolati e si basava su risultati di esami clinici, strumentali (inclusi i test genetici). Dopo il rilascio di un consenso informato scritto, i genitori (o un legale rappresentante) dei pazienti hanno acconsentito agli accertamenti diagnostici, consentendo l'accesso alla cartella clinica. Per ogni paziente arruolato, è stata raccolta l'anamnesi ed è stata effettuata un'indagine clinica accurata (visita neurologica, verifica del comportamento spontaneo e delle interazioni con l'esaminatore).

L'anamnesi e la valutazione clinica sono stati video-registrati nello studio del curante.

I video e tutto il materiale incluso nelle cartelle cliniche dei pazienti (ad eccezione dei risultati dei test genetici) sono stati esaminati da una commissione composta da 5 neuropsichiatri infantili esperti di disordini del neurosviluppo. Tali esperti (revisori), erano in cieco rispetto alla diagnosi dei pazienti.

Ad ogni revisore è stato chiesto di formulare la diagnosi (idic(15) o altro) indicando per ogni diagnosi il grado di certezza diagnostica (definita, probabile o incerta) in tre fasi consecutive: la prima dopo aver rivisto le cartelle cliniche (private dei referti degli esami strumentali), la seconda dopo aver esaminato le video registrazioni e la terza dopo aver letto i referti degli esami strumentali. Per ogni fase, dovevano compilare la sezione dedicata di una scheda raccolta dati elettronica. In seguito a questi passaggi è stato valutato l'accordo tra i revisori.

Al termine dello studio si è cercato di individuare un gruppo di sintomi, segni ed esami strumentali d'aiuto al medico curante per formulare una diagnosi precoce di sindrome di idic(15) in un bambino o un giovane adulto con disordini dello sviluppo, disabilità intellettiva, epilessia e disturbi del comportamento in varie combinazioni. Sintomi, segni ed esami strumentali sono stati valutati comparando il fenotipo dei casi e dei controlli. L'identificazione dei criteri diagnostici con differenti gradi di certezza è utile per lo screening dei pazienti affetti da sindrome di idic(15) tra coloro che hanno disordini del neurosviluppo in una data popolazione a rischio.

Analisi statistica

L'accordo tra i revisori è stato testato usando il coefficiente di concordanza di Kendall (W) per le seguenti categorie diagnostiche: idic(15), sindrome di Angelman, sindrome di Pitt-Hopkins, sindrome di Mowat-Wilson, mucopolisaccaridosi di tipo 3, sindrome FOXG1, sindrome di West, disturbi dello spettro autistico, altri disturbi del neurosviluppo.

Il grado di certezza diagnostica per idic(15) verso altre condizioni cliniche è stato analizzato nei casi e nei controlli separatamente, usando frequenze e percentuali. L'accordo tra i revisori è stato inoltre testato per ogni sintomo, segno ed esame strumentale separatamente, usando il coefficiente W di Kendall per le variabili ordinali e la K di Fleiss per le variabili categoriche. I due coefficienti di concordanza W di Kendall e K di Fleiss assumono valori tra lo 0 (nessun accordo) e l'1 (massimo accordo).

I segni, sintomi ed esami strumentali con valori di W non inferiori a 0.6 sono stati valutati in termini di sensibilità e specificità per identificare i fattori in grado di predire la diagnosi di idic (15).

Modelli di regressione logistica univariata e multivariata sono stati utilizzati per valutare il valore predittivo dei segni, sintomi ed esami strumentali, singolarmente o in varie combinazioni. Il valore predittivo positivo è stato valutato in termini di AUC (area sotto la curva ROC). I valori di AUC variano da 0.5 (pessimo discriminante) a 1 (perfetto discriminante). E' stato selezionato come cut-off il livello di probabilità che forniva la massima percentuale di soggetti classificati correttamente (come casi o controlli). La sensibilità (SE), la specificità (SP), il valore predittivo positivo (PPV) e il valore predittivo negativo (NPV) sono stati calcolati per questo cut-off. Ogni revisore ha esaminato le cartelle cliniche e le videoregistrazioni di tutti i casi e i controlli, per un totale di 250 osservazioni (125+125).

Risultati

In totale sono stati arruolati 50 pazienti, 25 casi con diagnosi di sindrome di idic(15) e 25 controlli con le seguenti diagnosi: sindrome di Angelman (7); disturbo dello spettro autistico (3); sindrome di Rett (2); sindrome di Dravet (2); encefalopatia epilettica in sindrome di FOXP1 (2); altra encefalopatia epilettica (2); sindrome di Pitt-Hopkins (2); disturbo pervasivo dello sviluppo (2); sindrome X-fragile (1); epilessia criptogenica con ritardo cognitivo (1); disabilità intellettiva con disturbi del linguaggio (1).

La tabella 1 riporta la descrizione del campione mentre la tabella 2 il confronto per sesso, peso, lunghezza e circonferenza cranica alla nascita tra i casi, i controlli e i valori standard dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (who.int/childgrowth/en). Non sono state evidenziate differenze tra casi e controlli.

Tabella 1

	Casi		Controlli	
	n	%	n	%
Sesso				
F	10	40.0	10	40.0
M	15	60.0	15	60.0

	Mediana	IQR	Mediana	IQR
Età	11.0	5.0-37.5	11.0	6.0-13.0
Età gestazionale	40.0	37.5-40.0	39.0	38.0-40.0
Peso alla nascita	3.2	2.8-3.5	3.3	2.9-3.6
Lunghezza alla nascita	49.8	47.5-50.0	50.0	49.0-50.0
Circonferenza cranica	34.0	33.0-35.5	34.5	33.2-35.0
Apgar	9.0	8.0-9.0	9.0	8.0-9.0

Tabella 2

	Femmine		Maschi	
	Mediana	IQR	Mediana	IQR
<u>Valori standard</u>				
Peso	3.2	2.9-3.6	3.3	3.0-3.7
Lunghezza	49.1	47.9-50.4	49.9	48.6-51.2
Circonferenza cranica	33.9	33.1-34.7	34.5	33.6-35.3
<u>Casi</u>				
Peso	2.9	2.8-3.3	3.3	3.1-3.5
Lunghezza	48.0	44.4-50.0	50.0	49.0-50.0
Circonferenza cranica	33.3	31.0-35.5	34.0	33.5-36.0
<u>Controlli</u>				
Peso	3.0	2.6-3.3	3.4	3.3-3.6
Lunghezza	50.0	47.0-50.0	50.0	49.0-53.0
Circonferenza cranica	33.3	30.0-34.5	35.0	35.0-37.0

Accordo tra i revisori sulla diagnosi

La tabella 3 mostra il coefficient W di Kendall per ciascuna categoria diagnostica. La concordanza per la diagnosi di idic(15) allo step 1 era 0.43; allo step 2 era 0.42; allo step 3 era 0.37.

Tabella 3

Diagnosi	W di Kendall		
	Step 1	Step 2	Step 3
15q11-13	0.43	0.42	0.37
Sindrome di Angelman	0.56	0.52	0.57
Sindrome di Pitt-Hopkins	0.39	0.37	0.37
Sindrome di Mowat-Wilson	0.20	0.21	0.22

Mucopolisaccaridosi di tipo 3	0.76	0.17	0.19
Sindrome FOXP1	0.23	0.32	0.34
Sindrome di West	0.59	0.53	0.50
Disordini dello spettro autistico	0.52	0.53	0.53
Altri disordini del neurosviluppo	0.36	0.33	0.31

Grado di accuratezza diagnostica

Il grado di certezza diagnostica relativa alla diagnosi di sindrome di idic(15) è riportato in tabella 4 per casi e controlli e per ogni step separatamente. Il grado di certezza diagnostica (No, Incerta, Probabile, Certa) è stato riportato separatamente per tutti i revisori per i casi (125 osservazioni) e per i controlli (125 osservazioni). Ogni paziente è stato considerato tante volte quanto il numero dei revisori. Considerando le singole risposte, le risposte “No” nel gruppo dei controlli sono diminuite dal 54.4% al 49.6% dallo step 1 allo step 2 e sono aumentate a 52.8% allo 3; le diagnosi incerte sono rimaste stabili; le diagnosi probabili sono diminuite dal 23.2% dallo step 1 al 21.6 allo step 3; le diagnosi certe sono aumentate dal 2.4% al 4.8%. Tra i casi invece, le risposte “No” sono aumentate dal 32.0% al 36.0%; le diagnosi incerte sono rimaste stabili; le diagnosi probabili sono rimaste stabili tra step 1 e step 2 e sono diminuite allo step 3 (37.6%); le diagnosi certe sono diminuite dal 7.2% (step1) al 5.6% (step 2) e aumentate nuovamente al 10.4% allo step 3.

Tabella 4

Diagnosi Idic 15	Step 1				Step2				Step 3			
	Casi		Controlli		Casi		Controlli		Casi		Controlli	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
No	40	32.0	68	54.4	40	32.0	62	49.6	45	36.0	66	52.8
Incerta	21	16.8	25	20.0	23	18.4	26	20.8	20	16.0	26	20.8
Probabile	55	44.0	29	23.2	55	44.0	33	26.4	47	37.6	27	21.6
Certa	9	7.2	3	2.4	7	5.6	4	3.2	13	10.4	6	4.8

Accordo tra i revisori sui segni, sintomi ed esami strumentali

L'accordo tra i revisori sui segni, sintomi ed esami strumentali è riportato per ogni step nella tabella 5. Sono riportate solo le variabili che hanno raggiunto la soglia pre-definita per i coefficienti di concordanza (W o K).

Tabella 5

Segni, sintomi ed esami strumentali	W di Kendall		
	Step 1	Step 2	Step 3
Difficoltà ad alimentarsi nel periodo neonatale	0,63	-	-
Stare in piedi	0,70	-	-
Camminare	0,83	-	-
Parlare	0,69	-	-
Narici anteverse	0,40	0,65	-
Obesità	0,48	0,66	-
Ipotonia	0,63	0,66	-
Ipotonia alla visita	-	0,60	-
Ritardo dello sviluppo	0,60	0,66	-
Ritardo mentale	0,54	0,62	-
Epilessia	0,88	-	-
Spasmi infantili	0,69	-	-
Crisi focali	0,63	-	-
Punte-onda lente	-	-	0,64
Polipunte-onda lente	-	-	0,6
Media	0,42	0,43	0,50

Analisi del potere discriminante dei segni, sintomi ed esami strumentali

Il potere discriminante dei segni, sintomi ed esami strumentali è stato valutato per le variabili con un buon livello di accordo tra i revisori (coefficiente W o K non inferiore allo 0.6).

Per ciascuna di queste variabili, in tabella 6 sono riportate la frequenza e le percentuali nei casi e nei controlli di segni, sintomi o esami strumentali come presenti o dubbi secondo i revisori.

Tabella 6

Segni, sintomi ed esami strumentali con accordo ≥ 0.6	Casi			Controlli		
	n (%) dubbio	n positivo	% positivo	n (%) dubbio	n positivo	% positivo
Step 1						
Difficoltà ad alimentarsi nel periodo neonatale	25 (20)	70	56.0	29 (23)	31	24.8
Stare in piedi	10 (8)	102	81.6	6 (5)	109	87.2
Camminare	4 (3)	99	79.2	3 (2)	112	89.6
Parlare	5 (4)	51	40.8	6 (5)	59	47.2
Epilessia	9 (7)	91	72.8	6 (5)	85	68.0
Spasmi infantili	28 (22)	36	28.8	36 (29)	11	8.8
Crisi focali	28 (22)	69	55.2	38 (30)	50	40.0

Step 2

Narici anteverse	2 (2)	11	8.8	2 (2)	4	3.2
Obesità	2 (2)	8	6.4	0 (0)	21	16.8
Ipotonia	24 (19)	69	55.2	19 (15)	47	37.6
Ipotonia presente alla visita	25 (20)	60	48.0	20 (16)	49	39.2
Ritardo dello sviluppo	0 (0)	50	40.0	0 (0)	51	40.8
Ritardo mentale	0 (0)	64	51.2	0 (0)	64	51.2

Step 3

Punte-onda lente	20 (16)	64	51.2	22 (18)	65	52.0
Polipunte-onda lente	20 (16)	49	39.2	23 (18)	44	35.2

La tabella 7 mostra i valori di AUC per segni, sintomi ed esami strumentali, singolarmente o in varie combinazioni, insieme a SE, SP, VPP and VPN ottenuti per il miglior cut-off selezionato.

Le combinazioni migliori sono state selezionate con due procedure differenti:

- 1) Selezione stepwise basata sul livello di significatività delle variabili incluse nel modello;
- 2) Selezione automatica delle variabili, iniziando dalla variabile con il valore più alto di AUC, e aggiungendo una ad una le altre variabili, mantenendo nel modello solo le variabili che comportano un incremento significativo dell'AUC.

Le due procedure hanno generato la stessa combinazione di segni, sintomi ed esami strumentali. Il modello finale selezionato è evidenziato in tabella 7.

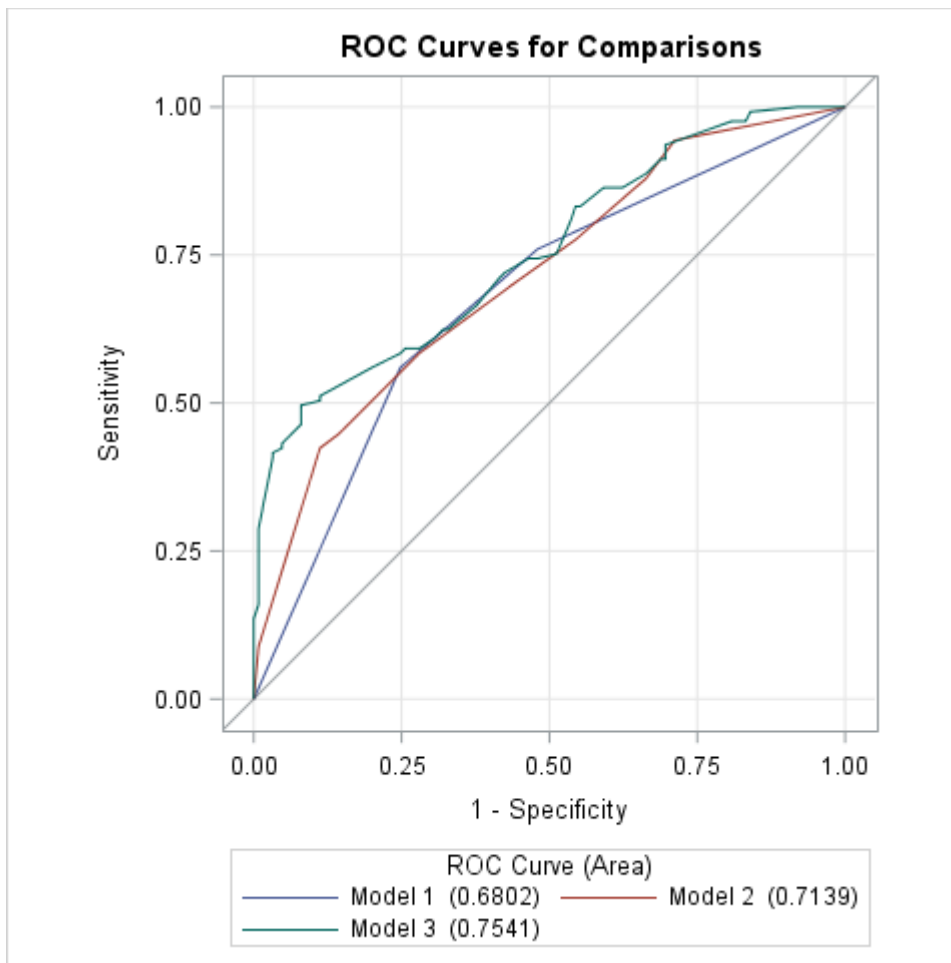
Tabella 7

Modello	AUC	TP	TN	FP	FN	SE	SP	PPV	NPV	Corretto	Cut-off
Step 1											
Difficoltà ad alimentarsi nel periodo neonatale	0,68	70	94	31	55	56,0	75,2	69,3	63,1	65,6	0,68
Stare in piedi	0,53	23	109	16	102	18,4	87,2	59,0	51,7	52,8	0,54
Camminare	0,55	26	112	13	99	20,8	89,6	66,7	53,1	55,2	0,48
Parlare	0,54	69	65	60	56	55,2	52,0	53,5	53,7	53,6	0,52
Epilessia	0,54	100	34	91	25	80,0	27,2	52,4	57,6	53,6	0,50
Spasmi infantili	0,60	36	114	11	89	28,8	91,2	76,6	56,2	60,0	0,76
Crisi focali	0,58	69	75	50	56	55,2	60,0	58,0	57,3	57,6	0,56
Step 2											
Narici anteverse	0,53	11	121	4	114	8,8	96,8	73,3	51,5	52,8	0,68
Obesità	0,56	117	21	104	8	93,6	16,8	52,9	72,4	55,2	0,52
Ipotonia	0,61	93	59	66	32	74,4	47,2	58,5	64,8	60,8	0,54
Ipotonia presente alla visita	0,56	85	56	69	40	68,0	44,8	55,2	58,3	56,4	0,54

Ritardo dello sviluppo	0,50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ritardo mentale	0,50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Step 3											
Punte-onda lente	0,52	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Polipunte-onda lente	0,53	49	81	44	76	39,2	64,8	52,7	51,6	52,0	0,50
Gruppi di segni											
Difficoltà ad alimentarsi nel periodo neonatale	0,68	70	94	31	55	56,0	75,2	69,3	63,1	65,6	0,68
Difficoltà ad alimentarsi nel periodo neonatale + ipotonia	0,71	53	111	14	72	42,4	88,8	79,1	60,7	65,6	0,64
Difficoltà ad alimentarsi nel periodo neonatale + ipotonia + spasmi infantili + crisi focali	0,75	62	111	14	63	49,6	88,8	81,6	63,8	69,2	0,62

Le curve ROC (con i valori di AUC) per il confronto dei modelli predittivi con le diverse combinazioni di segni, sintomi ed esami strumentali sono mostrate in figura 1. Le curve rappresentano le variazioni della sensibilità al variare della sensibilità.

Figura 1



Modello 1: Difficoltà ad alimentarsi nel periodo neonatale

Modello 2: Difficoltà ad alimentarsi nel periodo neonatale + ipotonia

Modello 3: Difficoltà ad alimentarsi nel periodo neonatale + ipotonia + spasmi infantili + crisi focali

Conclusioni

Analizzando l'accordo tra i revisori e il livello di certezza diagnostica sulla base degli elementi disponibili, lo step 1 e lo step 2 hanno comportato un contributo maggiore rispetto alla fase 3 nel formulare una diagnosi corretta. L'accordo tra i revisori per la sindrome di idic(15) era più alto allo step 1, diminuiva allo step 2 e decresceva ancora di più allo step 3. Il grado di certezza diagnostica migliorava dallo step 1 allo step 3 nei casi in cui i revisori erano certi della diagnosi di sindrome di idic(15) ma diminuiva nei casi in cui la diagnosi era considerata "probabile".

I referti di EEG, risonanza magnetica e TAC hanno deviato i revisori dal formulare una corretta diagnosi per la presenza di alterazioni che sono state variamente interpretate dai revisori e per la mancanza di elementi strumentali a supporto della diagnosi.

La maggior parte delle variabili per le quali i revisori hanno raggiunto un buon accordo (>0.6 , calcolato con il coefficiente W di Kendall) erano quelle già descritte da Battaglia (2008), ad eccezione dell'autismo. Considerando singolarmente ciascuna variabile separatamente, valori di AUC superiori a 0.55 sono stati ottenuti per difficoltà ad alimentarsi nel periodo neonatale, camminare, spasmi infantili, crisi focali, obesità ed ipotonia. Il modello finale con il miglior potere discriminante includeva: difficoltà ad alimentarsi nel periodo neonatale, ipotonia, spasmi infantili e

crisi focali. Queste variabili, combinate tra loro, aiutano però a discriminare solo parzialmente la diagnosi di sindrome di idic(15) dai altri disordini del neurosviluppo: l'81.6% delle osservazioni classificate come positive dal modello erano confermate, mentre solo nel 63.8% delle osservazioni classificate come negative dal modello la diagnosi era di una patologia diversa.

Anche se il fenotipo con i più elevati valori di sensibilità e specificità da noi individuato non garantisce la massima accuratezza diagnostica, i dati a disposizione sono sufficienti per sottoporre ai test genetici del caso un paziente che arrivi all'osservazione medica per la formulazione della diagnosi. Inoltre, questi elementi possono essere utilmente considerati in studi epidemiologici per un primo screening della patologia nelle strutture di primo livello.

Referenza

Battaglia A. The inv dup (15) or idic(15) syndrome (Tetrasomy 15q). *Orphanet J Rare Dis* 2008; 3:30.