

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

Corso di Laurea Magistrale in Medicina e Chirurgia

Dipartimento di Medicina – DIMED

Direttore: Prof. Paolo Simioni

U.O.C. Pediatria

Ospedale Ca' Foncello di Treviso

TESI DI LAUREA

**“Studio descrittivo retrospettivo di prevalenza dei sintomi
di sospetto di malattia del connettivo: focus su Sindrome
di Ehlers Danlos”**

Relatore: Prof. Francesco Zulian

Correlatore: Dott.ssa Francesca Biscaro

Laureando: Callegari Davide

Anno Accademico 2023/2024

INDICE

1. Abstract	5
1.1 Abstract - Italiano	8
2. Introduzione	10
2.1 Disordini ereditabili del tessuto connettivo (HCTD)	10
2.2 Disordini dello spettro ipermobile (HSDs) e Ipermobilità articolare generalizzata (GJH)	11
2.2.1 <i>Beighton Scoring System</i>	11
2.3 Sindrome di Ehlers-Danlos (EDS)	13
2.3.1 <i>Definizione</i>	13
2.3.2 <i>Patogenesi e Genetica</i>	13
2.3.3 <i>Epidemiologia</i>	16
2.3.4 <i>Tipologie di Ehlers-Danlos</i>	17
2.3.5 <i>Diagnosi</i>	23
2.3.6 <i>Trattamento</i>	26
2.4 Differenze sulle manifestazioni nelle sindromi di Marfan, Loeys-Dietz ed Ehlers Danlos	28
2.4.1 <i>Marfan</i>	28
2.4.2 <i>Loeys-Dietz</i>	29
3. Obiettivi	31
4. Materiali e Metodi	32
4.1 Popolazione studio	32
4.2 Raccolta dati	32
4.3 Analisi statistica	33
5. Risultati	34
5.1 Descrizione della popolazione studio	34
5.1.1 <i>Caratteristiche demografiche</i>	34
5.1.2 <i>Beighton Score</i>	36
5.1.3 <i>Manifestazioni cliniche</i>	37
5.2 Possibili predittori e criteri diagnostici	38
6. Discussione	40
6.1 Segni e sintomi in EDS in popolazione adulta e pediatrica:	40

Differenze e similarità	
6.2 Manifestazioni cliniche	41
6.3 Predittori diagnostici di malattia	42
7. Conclusioni	43
8. Bibliografia	44

1. ABSTRACT

Introduction. The Ehlers-Danlos syndrome (EDS) comprises a heterogeneous group of genetically heritable conditions with common features such as hypersensitive skin, abnormalities in wound healing, propensity for skin lesions and joint hypermobility. The first types of EDS for which biochemical and/or molecular bases have been identified stem from defects in the primary structure, processing or modification of fibrillar procollagen types I, III and V. The official 2017 Classification of EDS identifies 13 distinct types of EDS caused by the alteration of 20 genes discovered to date.

Goals. The objectives of our study are to:

- to assess the prevalence of signs and symptoms of patients with suspected collagen disease in a group of paediatric and adult subjects
- to analyse the evolution of the different manifestations from paediatric to adult age;
- to verify the presence of possible clinical elements, not yet reported in the literature, capable of pointing towards an early diagnosis.

Materials and Methods. In this retrospective single-centre study, we considered patients with Ehlers-Danlos syndrome diagnosed according to the presence of clinical criteria reported in the literature. The following clinical parameters were considered: Beighton's Score, skin hyperelasticity, velvety skin, stretch marks, atrophic scars, long wound healing, recurrent dislocations, TMJ subluxation, skin fragility, scoliosis, history of limb pain, abdominal hernia, dental crowding, arachnodactyly, valve prolapse, aneurysms, epistaxis or other symptoms of coagulation alteration, Raynaud's phenomenon. Continuous variables were expressed as mean and standard deviations or possibly as median and IRQ, categorical ones as frequency and percentage. The t-test or Mann-Whitney test for continuous variables and the chi-square test for categorical variables were used for possible comparisons between groups.

Results. Forty-two patients followed in the Rheumatology and Paediatrics departments of the Ca'Foncello Hospital in Treviso entered the study.

All of them presented a Beighton Score suggestive of pathology (>6 for paediatric patients 0-18 years; >5 for patients in the age group 18 - 50 years and >4 for those over 50 years) while the presence of signs and symptoms related to a connective tissue disorder was variable in number. The different disease manifestations in the adult and paediatric population were analysed.

Abnormal skin elasticity present in 68.8% of paediatric patients fell to 26.9% in adult patients while the presence of atrophic scars rose from 43.8% in paediatric patients to 53.8% in the adult population. Of the study population, 38.9% had 5 or more clinical criteria defined as diagnostic while 61.6% had less clinical criteria in the presence of other symptoms suggestive of connective tissue disease. With regard to the possible clinical elements, not yet reported in the literature, capable of pointing towards an early diagnosis, three are of possible early diagnostic interest. Compared to the adult cohort, the presence of subluxation of the temporomandibular joint ($p = 0.029$) and the presence of distal hyperlaxity in the hands and feet ($p = 0.029$) were significantly more frequent in the paediatric population, while early scoliosis, although found in 40.5% of the subjects overall, did not present a higher prevalence in the paediatric age group than in adults ($p = 0.339$).

Conclusion. Our study allowed us to highlight some specific disease features in their distribution between paediatric and adult populations such as the presence of TMJ subluxation and distal ligamentous hyperlaxity of the extremities. These preliminary results, if confirmed in a larger patient population, could in the future become part of the diagnostic score and make early disease diagnosis easier and faster. Our study allows us to highlight some specific disease characteristics and their distribution between paediatric and adult populations. Further studies are certainly needed, possibly based on a larger study population of patients; however, the parameters previously mentioned in the paediatric population (presence of TMJ subluxation and distal hyperlaxation) may perhaps become part of the diagnostic

score in the future, which could further speed up and simplify the early diagnosis of the disease.

1.1 Abstract – Italiano

Introduzione. La Sindrome di Ehlers-Danlos (EDS) comprende un gruppo eterogeneo di condizioni geneticamente ereditabili aventi caratteristiche in comune, come cute ipersensibile, anomala guarigione delle ferite, propensione alle lesioni cutanee e ipermobilità articolare. I primi tipi di EDS per i quali sono stati identificati i fondamenti biochimici e/o molecolari derivano da difetti nella struttura primaria, elaborazione o modificazione del procollagene fibrillare di tipo I, III e V. La Classificazione ufficiale della EDS del 2017 identifica 13 distinte tipologie di EDS causate da mutazioni dei 20 geni finora scoperti.

Obiettivi. Gli obiettivi del nostro studio sono quelli di:

- valutare la prevalenza dei segni e sintomi di pazienti con sospetta malattia del collagene in un gruppo di soggetti pediatrici e adulti;
- analizzare l'evoluzione delle diverse manifestazioni dall'età pediatrica a quella adulta;
- verificare la presenza di eventuali possibili elementi clinici, non ancora riportati in letteratura, in grado di indirizzare verso una diagnosi precoce.

Materiali e Metodi. In questo studio retrospettivo monocentrico, abbiamo considerato pazienti con Sindrome di Ehlers-Danlos diagnosticati in base alla presenza di criteri clinici riportati in letteratura. Per ogni paziente sono stati considerati i seguenti parametri clinici: Score di Beighton, iperelasticità cutanea, cute vellutata, smagliature, cicatrici atrofiche, guarigione ferite lunga, dislocazioni ricorrenti, sublussazione ATM, fragilità cutanea, scoliosi, storia di dolore agli arti, ernia addominale, affollamento dentale, aracnodattilia, prolasso valvolare, aneurismi, epistassi o altri sintomi da alterazione della coagulazione, fenomeno di Raynaud. Le variabili continue sono state espresse come medie e deviazioni standard o eventualmente come mediana e IRQ, quelle categoriche come frequenza e percentuale. Per eventuali confronti fra gruppi sono stati utilizzati il t-test o il test di Mann-Whitney per le variabili continue e il test chi-quadro per quelle categoriche.

Risultati. Sono entrati nello studio 42 pazienti seguiti nei reparti di Reumatologia e Pediatria dell'Ospedale Ca' Foncello di Treviso.

Tutti presentavano uno Score di Beighton suggestivo di patologia (>6 per i pazienti pediatrici 0-18 anni; >5 per pazienti nella classe di età 18 - 50 anni e >4 per gli over 50) mentre la presenza di segni e sintomi relativi ad un disturbo del connettivo avevano numerosità variabile. Sono state analizzate le differenti manifestazioni di malattia nella popolazione adulta e in quella pediatrica.

Un'abnorme elasticità cutanea presente nel 68.8% dei pazienti pediatrici scendeva al 26.9% nei pazienti adulti mentre la presenza di cicatrici atrofiche saliva dal 43.8% nei pediatrici fino al 53.8% nella popolazione adulta. Il 38.9% della popolazione in studio presentava 5 o più criteri clinici definiti come diagnostici mentre il 61.6% ne presentava di meno seppur in presenza di altri sintomi suggestivi di malattia del connettivo. Per quanto riguarda i possibili elementi clinici, non ancora riportati in letteratura, in grado di indirizzare verso una diagnosi precoce, tre sono di possibile interesse diagnostico precoce. Rispetto alla coorte di adulti, nella popolazione pediatrica risultano significativamente più frequenti la presenza di sublussazione dell'articolazione temporomandibolare ($p = 0.029$) e la presenza di iperlassità distale nelle mani e nei piedi ($p = 0.029$) mentre la scoliosi precoce pur essendo stata riscontrata globalmente nel 40.5% dei soggetti, non ha presentato una prevalenza maggiore in età pediatrica rispetto agli adulti ($p = 0.339$).

Conclusioni. Il nostro studio ha permesso di evidenziare alcune caratteristiche di malattia specifiche nella loro distribuzione tra popolazione pediatrica e adulta quali la presenza di sublussazione dell'ATM e l'iperlassità ligamentosa distale delle estremità. Questi risultati preliminari, qualora confermati in una popolazione di pazienti più ampia, potrebbero in futuro entrare nello score diagnostico e rendere più semplice e rapida la diagnosi precoce di malattia.

2. Introduzione

2.1 Disordini ereditabili del tessuto connettivo (HCTD)

Per HCTD ci si riferisce a disordini ereditari del tessuto connettivo, patologie genetiche che colpiscono fibre elastiche e del collagene andando a produrre disordini in numerosi organi e strutture come cuore, vasi sanguigni, pelle, articolazioni, ossa e polmoni.

Recenti studi¹ hanno dimostrato la stretta regolazione prodotta dalla matrice extracellulare (MEC) nei confronti di tessuti e organi. Tale matrice è composta da molecole con numerosi domini glicoproteici come collagene e fibrilline le quali svolgono il compito di circondare le cellule in prossimità della membrana basale e aiutarla nel raggiungimento della corretta morfologia funzionale e specializzazione cellulare. Specifiche mutazioni nella catena di formazione della MEC possono portare a disordini del tessuto connettivo multisistemici.

Gli HCTD sono un gruppo complesso ed eterogeneo di disordini, il che implica che il range di sintomi può variare da leggeri disturbi [come disordini dello spettro ipermobile (HSD)] a vere e proprie disfunzioni. Determinare la reale distribuzione ed incidenza di queste patologie risulta quindi non facile a causa delle diagnosi spesso effettuate solo in pazienti con sintomatologia più ingravescente. Per dare un'idea si stima che per la Sindrome di Marfan, considerata la più frequente malattia del collagene, vengano colpite da 1 a 5 persone ogni 10.000².

Il concetto di pleiotropismo è fondamentale per capire le dinamiche dei disordini che coinvolgono il tessuto connettivo. Il termine è usato per descrivere come la variazione di un solo gene possa produrre manifestazioni in multipli organi¹. Un esempio è il collagene tipo I il quale è espresso in ossa, pelle, tendini e legamenti. Una variazione generica legata alla produzione di questo elemento andrà a colpire tutti i distretti in cui sono coinvolte le strutture da esso composte.

L'espressività variabile è un altro segno distintivo degli HCTD. Questo termine denota i differenti gradi di severità che possono essere visti in pazienti con uguale mutazione genetica¹.

Queste caratteristiche sono fondamentali per capire quanto ancora è necessario lavorare per determinare in modo preciso la correlazione tra mutazione genetica ed

ambiente circostante (es. tabacco, alimentazione, attività fisica) nonché l'interazione tra mutazioni genetiche concomitanti.

2.2 Disordini dello spettro ipermobile (HSDs) e Ipermobilità articolare generalizzata (GJH)

Per ipermobilità ci si riferisce all'aumentato movimento attivo o passivo delle articolazioni oltre il normale range fisiologico³. Tuttavia, è possibile che un paziente manifesti un'ipermobilità articolare senza avere un disordine dello spettro ipermobile.

Un'accurata caratterizzazione dell'incidenza e prevalenza dell'HSDs è resa complessa dalla mancanza di una diagnosi, dovuta alla frequente benignità dei sintomi e dal fatto che con l'età spesso si hanno benefici piuttosto che peggioramenti. Secondo alcuni studi la prevalenza di GJH nella popolazione giovane tra i 18 e 25 anni varia dal 12.5% al 26%^{4,5}. Un più recente studio britannico ha invece stimato una prevalenza nella popolazione generale del 3%⁶.

L'ipermobilità articolare può essere categorizzata attraverso la somministrazione di un questionario composto di cinque domande, la positività a 2 o più domande su 5 presenta una sensibilità dell'84% e una specificità dell'80% (Figura 1)³.

Table 1. Validated Questionnaire for Joint Hypermobility

-
1. Can you now (or could you ever) place your hands flat on the floor without bending your knees?
 2. Can you now (or could you ever) bend your thumb to touch your forearm?
 3. As a child, did you amuse your friend by contorting your body into strange shapes or could you do the splits?
 4. As a child or teenager, did your kneecap or shoulder dislocate on more than one occasion?
 5. Do you consider yourself double jointed?
-
- Adapted from Hakim and Grahame. R.¹

Figura 1: Questionario per valutazione dell'ipermobilità articolare

2.2.1 Beighton Score

Un'altra modalità di diagnosi complementare al questionario, questa volta basata su un esame obiettivo fisico, è lo Score di Beighton. Questo score nasce come strumento di studio epidemiologico, tuttavia oggi è stato confermato come strumento altresì diagnostico⁷. Il vantaggio più rilevante di questo Score è la misurazione di un numero limitato di articolazioni diventando quindi un esame veloce e facilmente praticabile in assenza di goniometro o conoscenze specialistiche⁸.

Il punteggio massimo dello Score è di 9 punti, andando ad analizzare i seguenti criteri:

- Il paziente può appoggiare i palmi delle mani a terra senza piegare le ginocchia (1 punto)
- Il paziente può passivamente dorsiflettere la quinta articolazione metacarpofalangea per più di 90° (fino a 2 punti)
- Il paziente può apporre il pollice nel fianco volare dell'avambraccio (fino a 2 punti)
- Il paziente può iperestendere i gomiti per più di 10° (fino a 2 punti)
- Il paziente può iperestendere le ginocchia per più di 10° (fino a 2 punti)

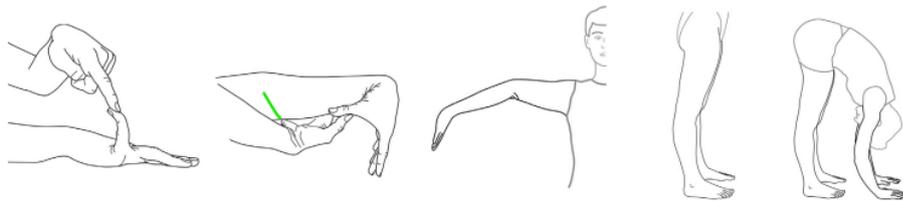


Figura 2: Manovre per valutazione Score di Beighton

Degli studi effettuati su questo score hanno posto come cut-off per la diagnosi di ipermobilità articolare un punteggio ≥ 4 ⁹, ciò nonostante è opportuno, in alcuni casi, andare ad aggiustare il punteggio in base a fattori che modificano le caratteristiche e i sintomi dell'ipermobilità quali età, sesso e razza^{10,11} ecco perché nella maggior parte degli studi si ritiene valido uno score >4 per pazienti con età maggiore di 50 anni, >5 per pazienti con età compresa tra i 18 e 50 e >6 per pazienti pediatrici sotto i 18 anni. Inoltre, si è dimostrata un'aumentata prevalenza di ipermobilità in razze non caucasiche, cioè in popolazioni asiatiche, africane e arabe¹¹.

2.3 Sindrome di Ehlers-Danlos (EDS)

2.3.1 Definizione

La Sindrome di Ehlers-Danlos (EDS) comprende un gruppo eterogeneo di condizioni geneticamente ereditabili aventi caratteristiche in comune, come cute ipersensibile, anomalie nella guarigione delle ferite, propensione alle lesioni cutanee e ipermobilità articolare.

2.3.2 Patogenesi e genetica

I primi tipi di EDS per i quali sono stati identificati i fondamenti biochimici e/o molecolari derivano da difetti nella struttura primaria, nell'elaborazione o nella modificazione del procollagene fibrillare di tipo I, III e V6 (Figg. 3 e 4). Questi procollageni sono molecole trimeriche che consistono di tre molecole identiche ("omotrimerico") o geneticamente distinte ("eterotrimerico") che sono denominate catene $\text{pro}\alpha$ e che formano tipiche strutture a tripla elica caratterizzate dalla tripla ripetizione Gly-Xaa-Yaa, che comprende la glicina e altri due aminoacidi. I procollageni vengono scissi per formare molecole di collagene mature da ADAMTS e dalla proteina morfogenetica 1 dell'osso (BMP1)/proteinasimi simil-tolloide. Questa scissione dà inizio alla formazione di fibrille di collagene e le fibrille vengono stabilizzate dalla formazione di legami crociati intermolecolari (Fig. 3)

Il collagene di tipo V costituisce l'impalcatura iniziale su cui le molecole di collagene di tipo I si assemblano nel derma, nei tendini e nelle ossa per formare fibrille eterotipiche di collagene di tipo I e V. Il collagene di tipo V comprende solo il 2-5% del contenuto totale di collagene nella maggior parte dei tessuti ed è presente principalmente come eterotrimeri di due catene $\alpha 1(V)$ (codificate da COL5A1) e una catena $\alpha 2(V)$ (codificata da COL5A2)^{53,54}. Esistono anche omotrimeri di tre catene $\alpha 1(V)$ o eterotrimeri composti da una catena $\alpha 1(V)$, $\alpha 2(V)$ e $\alpha 3(V)$ (con la catena $\alpha 3(V)$ codificata da COL5A3)⁵⁵, ma la loro funzione fisiologica rimane in gran parte poco chiara. Il collagene di tipo V è un importante regolatore della fibrillogenesi del collagene e ha un ruolo critico durante il processo precoce di nucleazione delle fibrille di collagene⁵⁶⁻⁵⁸.

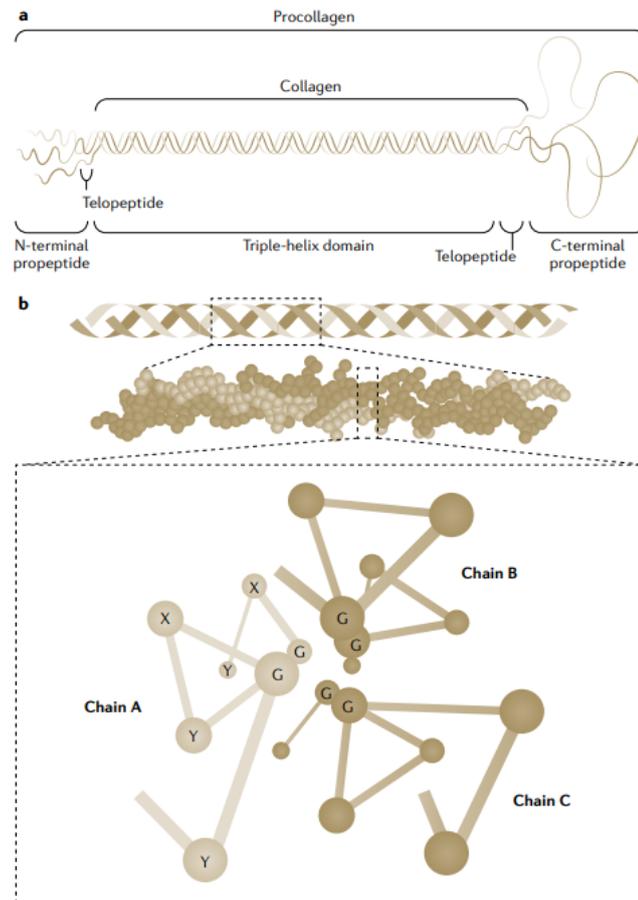


Figura 3: Fibrillogenesi del collagene

Di conseguenza, la completa assenza di collagene V (dovuta al knockout omozigote di COL5A1) determina l'assenza di formazione di fibrille e la letalità embrionale⁵⁹. Al contrario, una riduzione dell'espressione del collagene V determina un minor numero di fibrille di collagene I con diametri maggiori e confini irregolari⁶⁰, simili alle fibrille nei soggetti con aploinsufficienza di COL5A1. Nel complesso, questi studi indicano che la formazione e l'integrità delle fibrille hanno un ruolo chiave nelle proprietà fisiche della pelle e di altri tessuti, ma il percorso esatto rimane da determinare.

Il collagene di tipo III è un omotrimerico di tre catene $\alpha 1(\text{III})$ (codificato da COL3A1) e, come il collagene di tipo V, si coassembla con il collagene di tipo I per formare fibrille eterotipiche. Il collagene di tipo III è più abbondante nei tessuti che hanno proprietà complianti, tra cui il derma, la parete dei vasi sanguigni, il tratto gastrointestinale, l'utero, i polmoni, il fegato e la milza, in cui costituisce il 10-30%

del contenuto totale di collagene⁶¹⁻⁶². La funzione del collagene di tipo III nell'organizzazione e nelle proprietà biologiche della ECM è stata studiata meno rispetto al collagene di tipo V, ma si presume che il collagene di tipo III sia anche un regolatore dell'assemblaggio e del diametro delle fibrille di collagene, sulla base dell'osservazione che le fibrille di collagene eterotipiche (composte da collagene di tipo I e III) si riducono di diametro con l'aumento del rapporto tra collagene di tipo III e collagene di tipo I⁶³. A sostegno di un ruolo del collagene di tipo III nella regolazione del diametro delle fibrille di collagene, uno studio su topi Col3a1-knockout o transgenici (questi ultimi esprimono un collagene di tipo III mutante contenente una sostituzione della glicina elicoidale (p.Gly182Ser)) ha presentato un numero ridotto di fibrille di collagene con una maggiore variazione del diametro delle fibrille in tessuti che solitamente sono di tipo I e III^{64,65}.

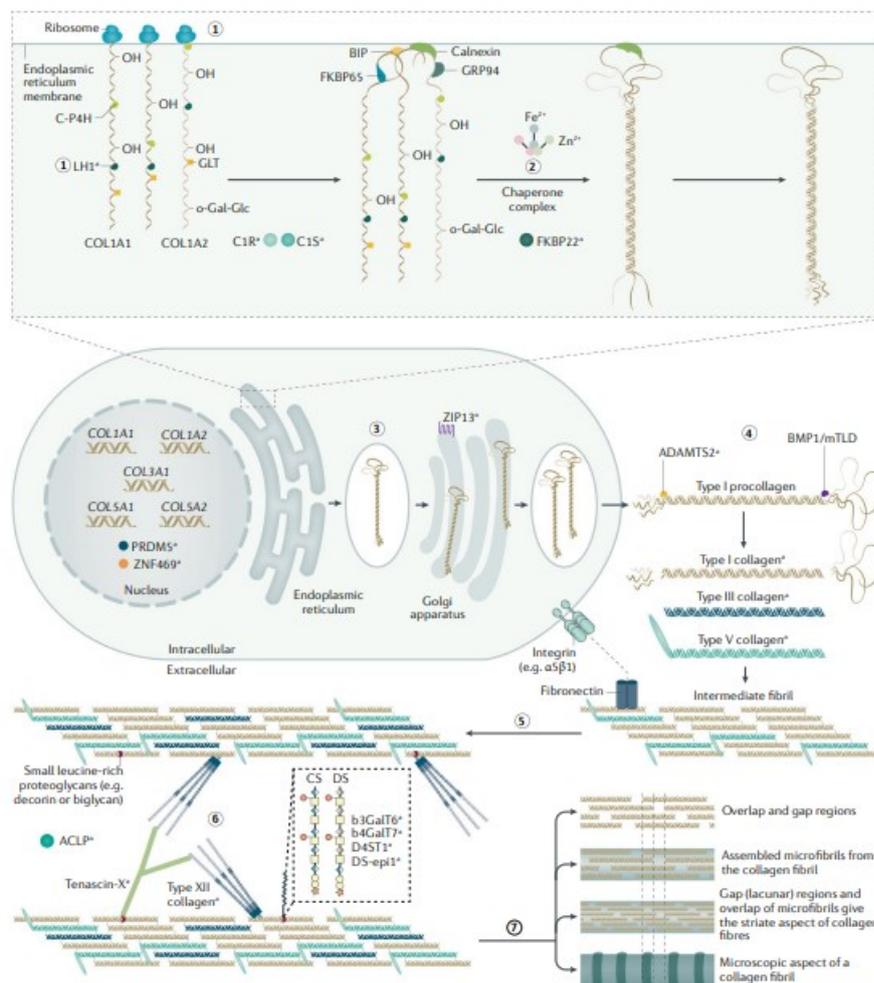


Figura 4: Collagene come elemento principale della ECM

2.3.3 Epidemiologia

La Classificazione 2017 ufficiale della EDS identifica 13 distinte tipologie di EDS causate dall'alterazione di 20 geni finora scoperti¹². Nonostante gli avanzamenti nel sequenziamento genetico, rimangono ancora delle forme cliniche associate a EDS non confermate da una diagnosi genetica, ad indicare che la eterogeneità genetica di questa sindrome non è stata ancora del tutto risolta.

Classification of the Ehlers–Danlos syndromes.

EDS Type	Inheritance	Gene(s)	Joint Hypermobility	Skin	Other Clinical Features
Classical EDS (cEDS)	AD	COL5A1, COL5A2	Generalized	Stretchy; doughy; fragile; atrophic scars	COL1A1 may present with osteoporosis and arterial aneurysms
Classical-like EDS (clEDS)	AR	Rare: COL1A1 TNXB	Generalized	Stretchy; velvety; without atrophic scars	Foot deformities; muscle weakness/atrophy
Cardiac-valvular EDS (cvEDS)	AR	COL1A2	Generalized or limited to distal joints	Stretchy; fragile; atrophic scars	Progressive cardiac valve abnormalities
Vascular EDS (vEDS)	AD	COL3A1	Small joints	Translucent; fragile; atrophic scars	Arterial or intestinal rupture; uterine rupture; carotid-cavernous sinus fistula
Hypermobile EDS (hEDS)	AD	Unknown	Generalized	Mildly soft; mildly stretchy; mild atrophic scars	
Arthrochalasia EDS (aEDS)	AD	COL1A1, COL1A2	Generalized (severe); congenital hip dysplasia	Stretchy; fragile; atrophic scars	Hypotonia
Dermatosporaxis EDS (dEDS)	AR	ADAMTS2	Generalized	Stretchy; doughy; extreme fragility; atrophic scars	Characteristic facial features; growth retardation; short limbs; bladder or diaphragm rupture
Kyphoscoliotic EDS (kEDS)	AR	PLOD1, FKBP14	Generalized	Stretchy; fragile	Hypotonia; arterial rupture; early-onset kyphoscoliosis
Brittle-Cornea syndrome (BCS)	AR	ZNF469, PRDM5	Distal joints	Soft; velvety; translucent	Thin cornea; blue sclerae; hearing loss
Spondylodysplastic EDS (spEDS)	AR	B4GALT7, B3GALT6, SLC39A13	Generalized or limited to distal joints	Stretchy; doughy; translucent	Short stature, hypotonia; bowing of long bones; developmental delay
Musculocontractural EDS (mcEDS)	AR	CHST14, DSE	Multiple contractures; recurrent dislocations	Stretchy; fragile; atrophic scars; palmar wrinkling	Characteristic facial features; large hematomas
Myopathic EDS (mEDS)	AD or AR	COL12A1	Distal joint hypermobility; proximal contractures	Doughy; atrophic scars	Hypotonia; developmental delay
Periodontal EDS (pEDS)	AD	C1R, C1S	Distal joints	Stretchy; fragile; atrophic scars	Severe periodontal disease; frequent infections

AD: autosomal dominant; AR: autosomal recessive. See Malfait et al., [2017]¹² for more complete descriptions.

Figura 5: Classificazione delle tipologie di EDS

A causa delle differenti manifestazioni e sintomi i dati precisi sulla prevalenza rimangono di difficile analisi. Nel 2002 è stata proposta un'incidenza di 1 su 5000 individui per tutte le forme di EDS senza particolare predisposizione in base all'etnia¹³. La diagnosi di EDS di tipo ipermobile è più frequente nel genere femminile nonostante non sia chiaro se la causa sia la maggiore prevalenza o la maggior acuità dei sintomi. Per quanto riguarda le altre forme, invece, la prevalenza rimane la stessa in ambo i generi¹⁴⁻¹⁶. Per le varianti a genetica nota più diffuse (cEDS e vEDS) degli studi hanno stimato l'incidenza rispettivamente a 1:20000 e 1:50000-1:200000 individui nati vivi globalmente¹⁴.

2.3.4 Tipologie di Ehlers Danlos

- EDS Ipermobile (hEDS)

La forma ipermobile rimane oggi quella di più difficile diagnosi a causa dell'ampia gamma e severità dei sintomi e dalla mancanza di un accertamento genetico possibile. Nonostante ciò, rappresenta verosimilmente l'80-90% dei casi di EDS con una prevalenza di 1:5000. In aggiunta all'ipermobilità articolare e disfunzioni cutanee, i pazienti con hEDS possono presentare anche fatigue, dolore cronico¹⁷, problemi cardiovascolari, problemi legati a massa ossea, disturbi neurologici, psicologici e gastrointestinali¹⁸.

La hEDS, per la maggior parte, è ereditata come un disturbo autosomico dominante del tessuto connettivo, ma in alcune famiglie si possono riscontrare altri modelli di ereditarietà; tuttavia, ciò può essere confuso dalla non-penetranza, dall'influenza del sesso e dall'eterogeneità genetica. Purtroppo, a differenza degli altri tipi di EDS, la hEDS non ha un'eziologia genetica nota, rimanendo responsabile dell'80% delle forme presenti nella popolazione. La JH stessa è multifattoriale, con età, sesso, peso, allenamento e altri aspetti che influenzano questo fenotipo.

Nonostante l'espressività variabile, alcuni studi dimostrano un'aumentata prevalenza in pazienti adulti nel genere femminile⁴⁴. Nell'infanzia si nota un pareggiamento delle percentuali di prevalenza tra i due sessi, le quali tendono ad aumentare in favore delle donne durante la pubertà; tale cambiamento risulta ancora non del tutto compreso, uno dei fattori più probabili rimane la presenza di ormoni femminili⁴⁵.

Negli ultimi anni, hEDS è stata ridefinita attraverso un nuovo set più rigoroso di criteri.

In particolare, per la diagnosi clinica di hEDS è necessaria la presenza simultanea di tre criteri:

CRITERIO 1 – Ipermobilità articolare generalizzata con Beighton Score positivo:

- ≥ 6 per pazienti pediatrici prepuberali
- ≥ 5 pazienti con meno di 50 anni
- ≥ 4 per pazienti con più di 50 anni

CRITERIO 2 – Devono essere presenti 2 o più dei seguenti parametri:

Parametro A: Cinque o più delle seguenti manifestazioni sistematiche di disordine del connettivo

1. Cute soffice o vellutata;
2. Leggera iperestensibilità cutanea, valutata nella zona volare dell'avanbraccio;
3. Smagliature inaspettate;
4. Papule piezogeniche bilaterali;
5. Ricorrenti o multiple ernie addominali (es. ombelicale, inguinale o crurale);
6. Presenza di cicatrici atrofiche;
7. Prolasso pelvico, rettale o uterino in assenza di gravidanza o obesità;
8. Affollamento dentale o palato stretto;
9. Aracnodattilia, definita da un Segno di Steinberg positivo da ambo i lati e/o da un Segno di Walker positivo da ambo i lati;
10. Rapporto lunghezza braccia aperte / altezza ≥ 1.05 ;
11. Prolasso valvola mitrale;
12. Dilatazione della radice aortica con Z-Score $>+2$.

Parametro B: Storia familiare positiva di almeno un parente di primo grado.

Parametro C: Almeno una tra le seguenti complicanze muscoloscheletriche:

1. Almeno 3 mesi di dolore giornaliero alle anche;

2. Dolore cronico diffuso della durata di almeno 3 mesi;
3. Dislocazioni articolari ricorrenti e/o instabilità articolare franca in assenza di traumi.

CRITERIO 3 – Tutti i seguenti requisiti devono essere soddisfatti:

1. Assenza di fragilità cutanea inusuale, la quale potrebbe indirizzare la diagnosi su altre tipologie di EDS;
2. Esclusione di altre patologie del connettivo, incluse malattie autoimmunitarie reumatologiche;
3. Esclusione di altre possibili diagnosi come ipermobilità articolare pura o patologie neuromuscolari (es miopatie) o altri disordini genetici del connettivo (es Marfan, Loeys-Dietz).

- EDS Vascolare (vEDS)

Questa forma comprende il 4% di tutte le EDS come risultato di una mutazione nel collagene tipo III derivante dal gene COL3A1 o da una specifica mutazione del gene COL1A1.

Il collagene tipo III è una delle maggiori componenti in tessuti come cute, vasi sanguigni e parete di organi cavi. Questa mutazione, in genere autosomica dominante, produce una situazione di difetto di collagene risultante in una predisposizione ad aneurismi, dissezioni arteriose, rotture spontanee e formazioni di fistole³².

- EDS Classica (cEDS)

La cEDS è causata da varianti patogenetiche eterozigoti in COL5A1 o COL5A2. Circa il 75% delle varianti patogenetiche identificate si trova in COL5A1 e porta all'aploinsufficienza (in cui una copia del gene è inattivata o cancellata e la copia funzionale rimanente del gene non compensa la ridotta produzione di proteine)^{66,67-70}. Questa aploinsufficienza può derivare dal decadimento dell'mRNA mediato da varianti nonsense, da piccole

duplicazioni o delezioni genomiche out-of-frame, da errori di splicing o dalla delezione di un allele. Poiché le molecole di procollagene di tipo V non possono ospitare più di una singola catena pro α 2(V), la riduzione delle catene pro α 1(V) disponibili comporta la produzione di circa la metà della quantità normale di collagene di tipo V⁷¹. Al contrario, le catene pro α 1(V) possono formare omotrimeri funzionali⁷²; da notare che non sono state identificate varianti COL5A2-null⁷³. Anche altre varianti di COL5A1 (come quelle che impediscono l'associazione delle catene pro α 1(V) al propeptide C-terminale) possono portare a una ridotta secrezione di procollagene di tipo V⁷⁴⁻⁷⁶. Le restanti varianti patogenetiche identificate in COL5A1 e COL5A2 sono varianti del sito di splice che portano a salti di esone in-frame singoli o multipli e varianti missense che causano sostituzioni di residui di glicina all'interno del dominio a tripla elica. Queste varianti hanno probabilmente un duplice effetto sulla funzione del procollagene di tipo V (alterata efficienza secretoria e inefficiente incorporazione in fibrille eterotipiche), anche se l'esatta modalità d'azione non è stata completamente chiarita^{66,70}.

Alcune mutazioni di COL1A1 sono state riconosciute come dirimenti per il sottotipo cEDS.

I criteri di Villefranche definiscono come criteri maggiori:

1. Iperestensibilità cutanea
2. Cicatrici atrofiche
3. Ipermobilità articolare

Criteri minori:

1. Cute vellutata
2. Pseudotumori molluscoidi
3. Sfere sottocutanee
4. Dislocazioni/sublussazioni articolari
5. Ipotonia muscolare
6. Predisposizione a ferite

7. Manifestazioni di fragilità cutanea (ernie o prolapsi)
8. Complicazioni chirurgiche
9. Familiarità positiva

- Classical-like EDS

A caratterizzare questo sottotipo è la mutazione a carico della TenascinaX (TNX), una glicoproteina contenuta nella matrice extracellulare prevalentemente in cuore, cute, muscolo scheletrico, nervi, legamenti, tendini e tratto digestivo. Le maggiori caratteristiche cliniche includono iperestensibilità cutanea, ipermobilità articolare generalizzata e lesioni cutanee spontanee. A differenziarla dalla forma classica è essenzialmente l'assenza nel 100% dei casi studio di cicatrici atrofiche³¹. Si nominano inoltre presentazioni muscoloscheletriche come anomalie dei piedi, brachidattilia, piede piano e alluce valgo e fatigue. Relativamente all'apparato cardiocircolatorio è presente fragilità vascolare, anomalie valvolari e più raramente cardiomiopatia.

- EDS Cifoscoliotica

Consiste in un disordine autosomico recessivo con una prevalenza stimata di 1:100000 nati vivi¹⁹. I criteri maggiori di diagnosi comprendono ipotonia ("floppiness"), cifoscoliosi precoce progressiva, ipermobilità articolare, dislocazioni frequenti mentre tra i criteri minori abbiamo iperelasticità, aneurismi, osteopenia/osteoporosi, ernie ombelicali, habitus marfanoide, deformità ai piedi e miopia²⁰. La malattia è divisa in due sottotipi. Tipo 1 (EDSKS1) causato dalla mutazione del gene PLOD1²¹ e tipo 2 (EDSSK2) causato dalla mutazione del gene FKBP14²². Entrambi i geni codificano per proteine essenziali alla formazione della struttura spaziale del collagene.

- Brittle Cornea Syndrome

Si tratta di una variante molto rara (1:1000000) con una mutazione biallelica nei geni ZNF469 e PRDM5. Mentre alcuni pazienti sviluppano un fenotipo oculare puro, altri manifestano anche sintomi tipici delle altre forme di EDS. La principale fragilità oculare è riscontrata nella cornea, a differenza della EDSKS nella quale ad essere colpita è la sclera²³.

- EDS Peridonatale

È uno specifico sottotipo caratterizzato da perdita dentale prematura dovuta a severa peridontite, aumentata predisposizione alle infezioni e anomalie del tessuto connettivo come ipermobilità articolare e rottura vascolare²⁴. A causare la sintomatologia è una mutazione dei geni C1R e C1S, codificanti subunità appartenenti alla via del complemento, il che va a influenzare l'interazione con agenti infettivi esterni amplificando l'infiammazione.

- EDS Artrocalasica

Caratterizzata da ipermobilità articolare severa, dislocazione congenita bilaterale delle anche, iperestensibilità cutane, ipotonia muscolare e lievi caratteristiche dismorfiche. I geni associati sono COL1A1 e COL1A2²⁵

- EDS Muscolocontratturale

Causato dalla mutazione dei geni CHST14 e DSE, questo sottotipo presenta come criteri maggiori contratture multiple congenite, peculiarità cranio-facciali già evidenti alla nascita e caratteristiche cutanee come iperestensibilità. Tra i criteri minori ci sono dislocazioni ricorrenti, deformità gabbia toracica e spinali, ematomi spontanei, diverticoli, strabismo, difetti visivi²⁶.

- EDS Miopatica

Sottotipo causato dalla mutazione del gene COL12A1 caratterizzato da manifestazioni muscoloscheletriche multiple come debolezza muscolare, cifoscoliosi, lassità articolare distale, contratture prossimali e ritardo di sviluppo motorio²⁷.

- EDS Cardiaca-Valvolare

Presenta mutazione in COL1A2 e caratteristiche come ipermobilità generalizzata, moderata-severa patologia valvolare cardiaca, iperestensibilità cutanea e insieme ad altri fattori minori²⁸.

- EDS Spondilodisplastica

I geni associati a questo sottotipo sono B4GALT7, B3GALT6 e SLC39A13 codificanti enzimi deputati alla produzione di proteoglicani. È una variante rara presentante bassa statura, lieve ipotonia muscolare, caratteristiche facciali specifiche, ritardo di sviluppo e uno sviluppo precoce di ipermetropia²⁹.

- Dermatosparaxis EDS

In questa forma è mutato il gene ADAMST2, che produce meno proteine deputate al clivaggio dei domini del collagene I II e III, rendendo meno efficace la molecola³⁰.

2.3.5 Diagnosi

Una diagnosi clinica di EDS viene spesso sospettata sulla base di ipermobilità articolare (generalizzata), guarigione anomala delle ferite, ecchimosi inspiegabili e/o altri segni di fragilità vascolare o tissutale. Tuttavia, la diagnosi clinica spesso non è immediata, poiché molte caratteristiche della EDS sono presenti nella

popolazione generale e alcune caratteristiche della EDS si ritrovano in altre condizioni genetiche; di conseguenza, può esserci un lungo ritardo nella diagnosi. Sia la nosologia di Villefranche (1998) che la classificazione EDS estesa del 2017 hanno definito i criteri clinici maggiori e minori per i tipi di EDS^{77,78}. Ci si aspetta che un criterio maggiore abbia un'elevata specificità diagnostica in quanto è presente nella maggior parte degli individui con quel tipo di EDS ed è assente o raro nella popolazione generale. Inoltre, i criteri principali sono considerati caratteristici per il tipo specifico di EDS e possono consentire la differenziazione da altri tipi di EDS e/o da altri disturbi ereditari del tessuto connettivo parzialmente sovrapposti.

Al contrario, un criterio minore trasmette una minore specificità diagnostica, ma la sua presenza supporta la diagnosi e spesso la combinazione di più criteri minori è più suggestiva della diagnosi specifica di EDS. Prima dell'introduzione dei test genetici, questi criteri erano spesso i fattori critici che stabilivano una diagnosi specifica. Questa pratica è emersa dalla necessità clinica di facilitare la diagnosi per consentire la consulenza sulla prognosi e sui rischi di recidiva e per identificare strategie di gestione specifiche. Negli ultimi decenni ha facilitato il raggruppamento di individui ai fini di studi genetici per identificare geni che ospitano varianti causali, le quali hanno portato al riconoscimento dell'eterogeneità genetica e della diversità allelica, e ha caratterizzato percorsi che possono aiutare a raggruppare nuovamente gli individui in gruppi "basati sui meccanismi". Nonostante il legame tra fenotipo e genotipo sia diventato più facile da identificare, i medici e i pazienti in genere partono dai segni e dai sintomi clinici per arrivare a una diagnosi di base, in seguito alla quale dovrebbe essere effettuato il test del pannello genetico diagnostico. Tuttavia, poiché la base genetica della hEDS è ancora sconosciuta, la diagnosi di questo tipo si basa sui soli reperti clinici, come delineato nei criteri rivisti per l'hEDS^{78,79}

La maggior parte dei tipi di EDS sono condizioni pleiotropiche (cioè colpiscono molti tessuti e sistemi in tutto l'organismo), quindi lo screening iniziale dovrebbe valutare tutti i sistemi. Inoltre, l'anamnesi familiare è spesso di aiuto nella diagnosi e fornisce indizi sulle complicazioni che ci si può aspettare nei soggetti affetti. La diagnosi differenziale include (a seconda dei segni e dei sintomi) le sindromi della

cutis laxa, la sindrome di Marfan, la sindrome di Loeys-Dietz e altre sindromi ereditarie del torace. Altre sindromi ereditarie possono essere aneurisma dell'aorta toracica, l'osteogenesi imperfetta, la sindrome di Stickler, la sindrome di Larsen e altre displasie scheletriche e la miopatia di Bethlem.

Le indagini utili per escludere queste diagnosi differenziali al primo esame possono includere: ecocardiografia, esame oftalmologico con lampada a fessura per la ricerca di anomalie della camera anteriore e del cristallino, audiometria, radiografia dello scheletro, densitometria ossea standard e analisi basali del metabolismo osseo nel siero e nelle urine.

La decisione se e quali indagini siano rilevanti va presa caso per caso, in base ai risultati clinici e all'anamnesi familiare.

Gli studi genetici per identificare le varianti causali nel gene candidato e per confermare o stabilire la diagnosi dovrebbero essere eseguiti in tutti gli individui che soddisfano i criteri clinici per una diagnosi di EDS o che presentano risultati sufficienti a giustificare una preoccupazione (come definito nella classificazione estesa del 2017). Anche tra coloro che soddisfano i criteri per la hEDS possono esserci dubbi su altri tipi di EDS, in particolare sulla vEDS. Poiché esiste una sostanziale diversità allelica tra tutte le forme di EDS, l'analisi della sequenza fornisce una chiave per la correlazione genotipo-fenotipo, per una migliore gestione del rischio di complicanze (come la sorveglianza e il trattamento), per l'identificazione di altri membri della famiglia affetti, per la diagnosi presintomatica e rappresenta la trasformazione dell'assistenza dalla valutazione strettamente clinica alla diagnosi basata sui geni e alla medicina personalizzata. Da notare che gli approcci diagnostici genetici stanno diventando ben sviluppati nei sistemi medici tecnologicamente adattati e i costi per i test genetici sono notevolmente diminuiti negli ultimi anni. In altri contesti, come i Paesi a basso o medio reddito, la diagnosi si basa sulla valutazione clinica e la conferma molecolare è limitata a pochi individui che hanno accesso ai test genetici.

Il percorso verso la diagnosi genetica dipende da diversi fattori. Se una variante causale dell'EDS è stata precedentemente identificata all'interno della famiglia, è opportuno effettuare un'analisi mirata. La maggior parte degli studi diagnostici viene effettuata utilizzando un'analisi di sequenza altamente parallela

(sequenziamento di nuova generazione), in cui un pannello di geni noti viene sequenziato e analizzato simultaneamente. I pannelli di sequenziamento di prossima generazione multi-gene che includono i 20 geni correlati all'EDS e i geni associati ad altri disturbi del tessuto connettivo che si sovrappongono, sono l'approccio diagnostico preferito nei soggetti con fenotipi complessi o in quelli senza storia familiare di EDS, in quanto questi pannelli sono più efficaci in termini di tempo e di costi e possono identificare delezioni genomiche grandi e piccole nelle regioni coperte. Il sequenziamento del DNA di TNXB è complicato dalla presenza di uno pseudogene, TNXA, che è identico per oltre il 97% all'estremità 3' (esoni 32-44) di TNXB, ma sono state identificate strategie efficaci⁷⁸.

2.3.6 *Trattamento*

L'approccio terapeutico nella sindrome di Ehlers Danlos risulta maggiormente di tipo conservativo e incentrato nel migliorare i sintomi acuti, legati all'ipermobilità e alla facilità di lesione cutanea³³, e sintomi cronici come dolore e fatica.

Trattamento cutaneo

La principale indicazione preventiva consiste nell'evitare traumi. I pazienti pediatrici sono maggiormente inclini a ferirsi e potrebbero trarre beneficio da sistemi di protezione o bendaggi. Le ferite devono essere attentamente chiuse tramite suture con poca tensione. Punti di sutura vanno applicanti in numerosità maggiore e mantenuti in sede per il doppio del tempo standard. L'Acido Ascorbico può essere suggerito per ridurre i segni di abrasione mentre la DDAVP (analogo della vasopressina) risulta utile a ridurre i tempi di sanguinamento. Nonostante tale sanguinamento sia dovuto a fragilità capillare e tissutale piuttosto che da disordini coagulativi, degli studi hanno dimostrato il beneficio in ambito di epistassi e trattamento antecedente ad operazioni come rimozione dentaria.

Trattamento muscoloscheletrico

- Fisioterapia per bambini con ipotonia e ritardo nello sviluppo motorio

- Attività competitive, come atletica, sollevamento pesi e sport che possano causare pesante stress alle articolazioni sono sconsigliati. Sono invece consigliate attività come allenamento isometrico o nuoto.
- Rimane contraddittoria la sicurezza nei riguardi di sport di resistenza che potrebbero risultare benefici nello sviluppo di muscoli e tendini limitando quindi la componente della fatigue³⁴.
- Farmaci antinfiammatori e antidolorifici vengono lasciati come ultima risorsa.

Trattamento cardiaco

Devono essere effettuate delle ecocardiografie in prevenzione di dilatazione della radice aortica e prolasso della valvola mitrale. Seppur molto presenti in pazienti EDS, queste due complicanze risultano essere di lieve intensità e con significato clinico minimo. In caso di sostanziale normalità in paziente adulto non sintomatico non è considerato necessario un follow-up³⁵.

Trattamento dolore

La profilassi primaria nel dolore nocicettivo si concentra nel migliorare la stabilità articolare e ridurre spasmi miofasciali. Rilassamento miofasciale, stretching e altre terapie meccaniche possono risultare in una riduzione del dolore fino a 24h. La stabilizzazione articolare può essere raggiunta tramite aumento del tono muscolare e della propriocezione^{36,37}.

L'utilizzo di terapie farmacologiche regolari è spesso più efficace di farmaci assunti al momento del dolore. Analgesici orali non oppioidi devono essere massimizzati prima di passare a terapie più forti. FANS ed inibitori di COX2 risultano utili dopo episodi di dislocazione o sublussazione così come in aggiunta alla terapia nei momenti di forte dolore. Quando permesso dalla legge, è permesso l'uso di cannabinoidi; tuttavia, è da considerare eventuali effetti a lungo termine³⁸. Rilassanti muscolari possono aiutare nella gestione di spasmi miofasciali e dolore nocicettivo^{39,40}.

Un'importante problematica che può sorgere in pazienti presentanti EDS è lo sviluppo di un dolore generalizzato cronico. Questa situazione rientra nello spettro

di dolore centrale con componenti addizionali muscoloscheletriche. Pazienti che faticano ad avere uno stile di vita gradevole spesso necessitano di un programma di supporto multidisciplinare⁴¹.

Trattamento fatigue

In pazienti con hDS è presente fatigue mentale e fisica tanto quanto il dolore cronico⁴². Spesso è causata da elementi multifattoriali quali anemia, deficienze nutrizionali, terapie farmacologiche, qualità del sonno, disautonomia e aspetti psicologici. Vengono utilizzati questionari di screening per diagnosi e monitoraggio della fatigue che risulta migliorare con esercizi e terapie riabilitative, anche se con tempi lunghi⁴³.

2.4 Differenze di manifestazioni nelle sindromi di Marfan, Loeys-Dietz ed Ehlers-Danlos

Negli ultimi anni sono state scoperte più di 200 disordini ereditari del tessuto connettivo (HCTD) e fondamentale è stato l'utilizzo della genetica per identificare il più possibile le cause di tali patologie. Tra i geni mutati si identificano quelli codificanti proteine strutturali (FBN1, COL1A1, COL3A1, COL5A1, BGN), enzimi (ADAMTS2, PLOD1) o componenti della via di segnalazione TGFβ (SMAD2/3, TGFBR1/2, TGFB2/3).

La sindrome di Marfan (MFS), la sindrome di Ehlers-Danlos (EDS) e la sindrome di Loeys-Dietz (LDS) sono esempi di HCTD che mostrano una certa sovrapposizione clinica per quanto riguarda le caratteristiche cardiovascolari, scheletriche, cranio-facciali, oculari e cutanee.

2.4.1 Marfan

Descritta per la prima volta nel 1896, la Sindrome di Marfan ha una prevalenza nella popolazione di 1,5-17,2:100000⁴⁶ abitanti con un fenotipo caratterizzato da manifestazioni prevalentemente cardiovascolari, oculari e scheletriche.

Circa il 95% dei casi possono essere identificati dalla mutazione del gene FBN1 codificante la Fibrillina 1, componente della matrice extracellulare. Tra le forme più gravi di Sindrome di Marfan si cita quella neonatale (nMFS) causata da una mutazione nella parte centrale del gene FBN1 e associata ad un' aumentata mortalità neonatale^{47,48}.

La diagnosi si basa sui criteri di Ghent stabiliti nel 2010. Quest'ultima nosologia pone maggior importanza nella presenza di componenti cardiovascolari decretando la dilatazione della radice aortica e l'ectopia lentis come criteri maggiori, tanto che in assenza di storia familiare positiva sono sufficienti queste due manifestazioni per fare diagnosi⁴⁹.

2.4.2 Loeys-Dietz

La LDS è stata descritta per la prima volta nel 2005 da Bart Loeys e Harry Dietz. Nella sua presentazione più tipica, può essere distinta dalla MFS per la presenza esclusiva di ipertelorismo, ugola anomala (larga, con rafe o bifida) o palatoschisi e aneurismi e tortuosità aortiche e arteriose diffuse. Altre caratteristiche importanti che distinguono la LDS dalla MFS sono la craniosinostosi, il piede torto, le contratture articolari e l'instabilità del rachide cervicale⁵⁰. Rispetto alla MFS, le manifestazioni cardiovascolari sono più gravi e gli aneurismi aortici tendono a dissecarsi o rompersi a un diametro inferiore e a un'età più giovane. Inoltre, gli aneurismi aortici non sono limitati alla radice o all'aorta ascendente, ma interessano spesso i rami laterali dell'aorta e i vasi cerebrali. La tortuosità arteriosa interessa principalmente i vasi del collo e della testa⁵¹. Inoltre, ernia inguinale, ombelicale e iatale, pelle sottile e traslucida, scarsa guarigione delle ferite e cicatrici atrofiche si osservano frequentemente nelle LDS e non nelle MFS, mentre sono presenti nella EDS. Al contrario, non è stata riportata alcuna associazione tra la LDS e la presenza di ectopia lentis, una caratteristica chiave che distingue la MFS⁵². Le caratteristiche che si sovrappongono tra la MFS e la LDS includono la scoliosi, il pes planus, la deformità anteriore del torace (pectus excavatum e carinatum), il pneumotorace spontaneo e l'ectasia durale.

In conclusione, la MFS, l'EDS e la LDS sono esempi di HCTD che presentano una certa sovrapposizione clinica per quanto riguarda le caratteristiche cardiovascolari,

scheletriche e cutanee. La presenza di caratteristiche cardiovascolari può portare a complicazioni che sono associate ad alti tassi di mortalità e devono quindi essere monitorate di conseguenza. Si osserva anche una notevole sovrapposizione fenotipica tra i diversi sottotipi di LDS e EDS, rispettivamente, che rende difficile la diagnosi clinica e sottolinea l'importanza della conferma diagnostica molecolare.

3.OBIETTIVI

Gli obiettivi di questo studio retrospettivo sono:

- Descrivere la prevalenza dei sintomi presenti in pazienti con sospetta sindrome del connettivo sia nella popolazione adulta che pediatrica.
- Analizzare l'evoluzione delle diverse manifestazioni dall'età pediatrica a quella adulta.
- Evidenziare eventuali nuovi elementi clinici non ancora riportati in letteratura, in grado di indirizzare verso una diagnosi precoce.

4.MATERIALI E METODI

4.1 Popolazione studio

Nel nostro studio abbiamo considerato tutti i pazienti con sospetta o diagnosticata Sindrome di Ehlers Danlos seguiti nei reparti di Pediatria e Reumatologia dell'ospedale Ca' Foncello di Treviso.

Criteri di inclusione

- Diagnosi molecolare di EDS basata sullo studio genetico dei vari sottotipi di Sindrome;
- Diagnosi clinica di EDS o malattia del connettivo secondo i criteri diagnostici suggeriti dalla letteratura;
- Nessun limite di età è stato imposto;
- Consenso informato dei pazienti per l'uso dei dati a fini di ricerca

Criteri di esclusione

- Pazienti con iperlassità legamentosa benigna.

4.2 Raccolta dati

Lo studio è stato condotto tramite un'analisi retrospettiva dei dati clinici e demografici di pazienti seguiti presso i reparti di Pediatria e Reumatologia dell'ospedale Ca' Foncello di Treviso nel periodo da Aprile - Agosto 2024. I dati raccolti per ciascun paziente, quando disponibili, sono stati:

- Informazioni personali: età, sesso, etnia, età di esordio ed età di diagnosi della malattia, anamnesi familiare.
- Segni clinici relativi all'apparato muscoloscheletrico e cutaneo: Score di Beighton, iperelasticità cutanea, cute vellutata, smagliature, cicatrici atrofiche, guarigione ferite lunga, dislocazioni ricorrenti, sublussazione ATM, fragilità cutanea, scoliosi, piede piatto, storia di dolore agli arti.
- Segni clinici relativi a differenti apparati: ernia addominale, malattia da reflusso gastroesofageo, disturbi gastrointestinali, affollamento dentale,

aracnodattilia, disautonomia, prolasso valvolare, aneurismi, epistassi o altri sintomi da alterazione della coagulazione, fenomeno di Raynaud, disturbi urinari, disturbi oculari, cefalea tensiva, neuropatia periferica, neuropatia delle piccole fibre, disturbi psicologici

- Presenza o meno di genetica positiva

4.3 Analisi Statistica

Tutte le variabili registrate sono state presentate utilizzando la statistica descrittiva più appropriata. Le variabili continue sono state espresse come medie e deviazioni standard o eventualmente come mediana e IRQ, quelle categoriche come frequenza e percentuale. Per eventuali confronti sono stati utilizzati il t-test o il test di Mann-Whitney per le variabili continue e il test chi-quadro per quelle categoriche.

5. RISULTATI

5.1 Descrizione della popolazione studio

Soddisfacevano i criteri di inclusione e quindi sono entrati nello studio 42 pazienti seguiti nei reparti di Reumatologia e Pediatria dell'Ospedale Ca' Foncello di Treviso. Di questi, 26 erano adulti e 16 pediatrici. 8 pazienti su 42 (19%) avevano una conferma genetica, mentre 34 avevano una diagnosi solo clinica con genetica non ancora eseguita o negativa.

Tutti i pazienti presentavano uno Score di Beighton suggestivo di patologia (>6 per i pazienti pediatrici 0-18 anni, >5 per i pazienti 19-50 anni e >4 per gli over 50) mentre la presenza di segni e sintomi relativi ad un disturbo del connettivo aveva una numerosità variabile.

5.1.1 Caratteristiche demografiche

Le caratteristiche demografiche della coorte di pazienti sono riassunte nella seguente *Tabella I*.

	Pediatrici Media (DS)	Adulti Media (DS)
Età (anni)	11.0 (2.8)	42.3 (12.4)
Età all'esordio	4.7 (4.0)	13.6 (10.3)
Età alla diagnosi	9.6 (3.1)	35.9 (12.4)
Ritardo diagnostico	4.9 (2.8)	20.8 (14.8)

Tabella I: Caratteristiche demografiche dei pazienti

All'interno della coorte di pazienti esaminati, i parametri demografici che sono risultati più rilevanti, anche se non statisticamente significativi, sono la prevalenza del sesso femminile sia nella popolazione pediatrica che in quella adulta e l'aumentato ritardo diagnostico all'aumentare dell'età.

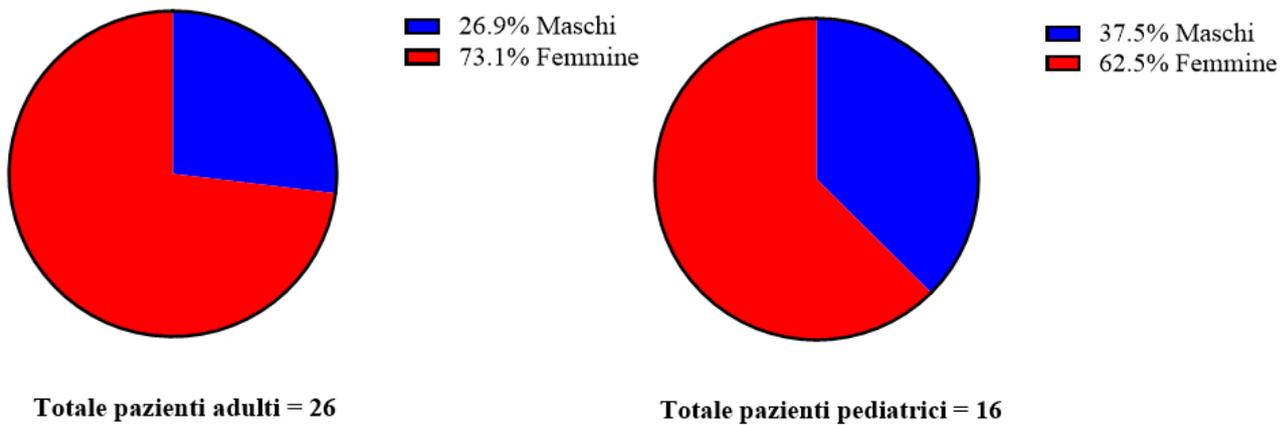


Figura 6: Prevalenza della patologia nei due sessi

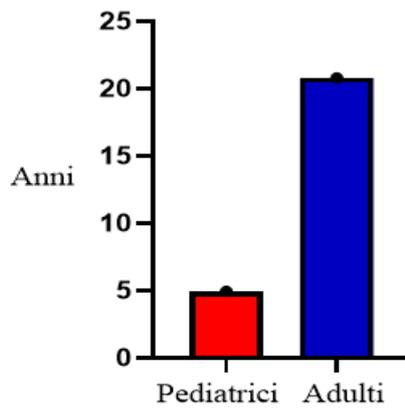


Figura 7: Ritardo Diagnostico in pazienti pediatrici e adulti

5.1.2 Beighton Score

Dall'analisi dello Score di Beighton si evince una media di 6.3 nella popolazione adulta contro un 6.7 nella popolazione pediatrica.

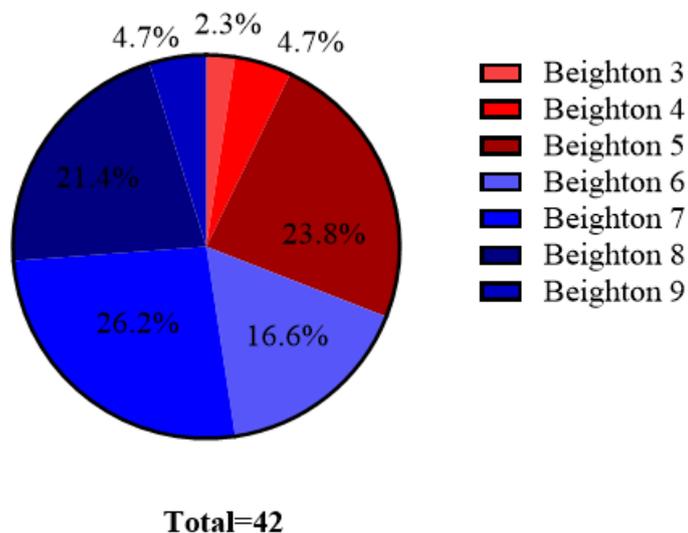


Figura 8: Distribuzione valore Score di Beighton

Lo Score di Beighton rimane pressoché invariato tra la popolazione maschile e femminile.

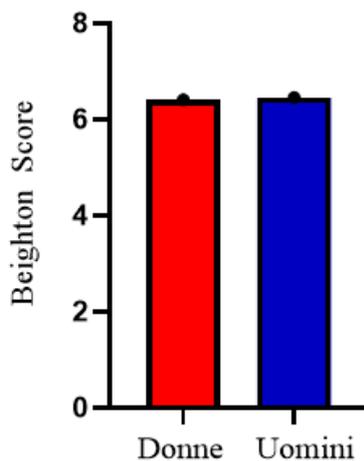
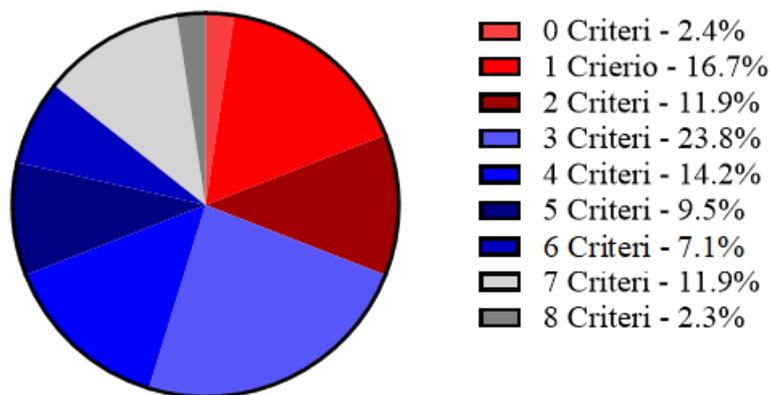


Figura 9: Beighton Score confronto femmine e maschi

5.1.3 Manifestazioni cliniche

Nel nostro studio sono stati presi in esame i segni e sintomi, maggiori e minori, che hanno permesso di porre la diagnosi di sindrome di ED. In Figura 10 viene riportata la prevalenza delle manifestazioni appartenenti ai criteri per la diagnosi presenti al momento dell'ultima visita.



Totale=42

Figura 10: Prevalenza segni e sintomi all'interno della coorte di pazienti

È stata successivamente studiata la prevalenza dei singoli segni e sintomi all'interno della popolazione studio riportata nel grafico che segue.

Nella popolazione esaminata, sono stati valutati alcuni elementi clinici non annoverati tra i criteri diagnostici presenti in letteratura (sublussazione ATM, iperlassità distale delle mani e dei piedi e scoliosi precoce), che hanno tuttavia mostrato avere una discreta rilevanza e significatività statistica.

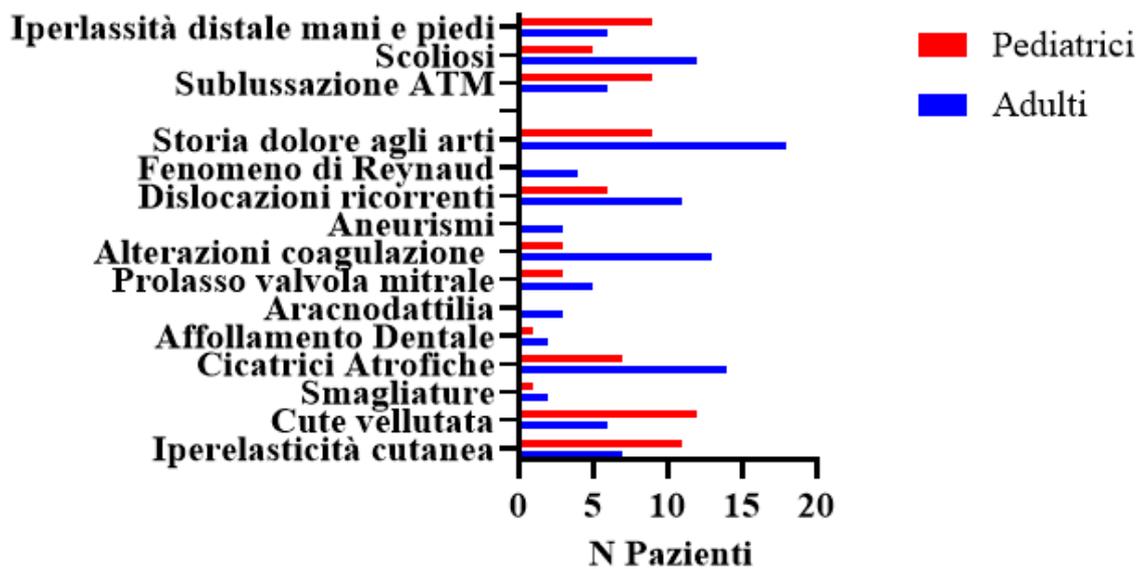


Figura 10: Distribuzione criteri diagnostici in pazienti pediatrici e adulti

5.2 Possibili predittori e criteri diagnostici

Relativamente all'analisi dei segni valutati nella coorte di pazienti si è notata una prevalenza significativa per quanto riguarda la presenza di sublussazione dell'articolazione temporomandibolare e iperlassità distale di mani e piedi, soprattutto nei pazienti pediatrici, insieme alla presenza di scoliosi precoce in tutti i pazienti.

Iperlassità distale mani/piedi

	Assente	Presente	Total
<i>Adulti</i>	20 (47.6%)	6 (14.3%)	26
<i>Pediatrici</i>	7 (16.7%)	9 (21.4%)	16
<i>Totale</i>	27	15	42

Test Chi²

χ^2	4.75	p value = 0.029
----------	------	-----------------

Tabella II: Distribuzione di iperlassità distale

Sublussazione ATM

	Presente	Assente	Total
<i>Adulti</i>	6 (14.3%)	20 (47.6%)	26
<i>Pediatrici</i>	9 (21.4%)	7 (16.7%)	16
<i>Totale</i>	15	27	42

Test Chi²

χ^2	4.75	p value = 0.029
----------	------	-----------------

Tabella III: Distribuzione sublussazione ATM

Scoliosi

	Presente	Assente	Total
<i>Adulti</i>	12 (28.6%)	14 (33.3%)	26
<i>Pediatrici</i>	5 (11.9%)	11 (26.2%)	16
<i>Total</i>	17	25	42

Test Chi²

χ^2	0.913	p value = 0.339
----------	-------	-----------------

Tabella IV: Distribuzione di scoliosi precoce

6. DISCUSSIONE

La Sindrome di Ehlers-Danlos (EDS) comprende un gruppo eterogeneo di condizioni geneticamente ereditabili caratterizzate dalla riduzione o modifica molecolare del collagene causate da diverse mutazioni a livello genetico insieme a elementi multifattoriali. Queste diverse forme presentano caratteristiche in comune, come cute ipersensibile, anomalie nella guarigione delle ferite, propensione alle lesioni cutanee e ipermobilità articolare.

Lo studio è stato condotto tramite un'analisi retrospettiva dei dati medici dei pazienti seguiti nel periodo Aprile - Agosto 2024 presso i reparti di Pediatria e Reumatologia dell'ospedale Ca' Foncello di Treviso.

Nonostante nei pazienti pediatrici spesso i segni risultino più blandi e meno severi, nella popolazione adulta la carenza di collagene spesso porta a complicanze più importanti quali prolapsi, aneurismi, dolore articolare e facilità alle dislocazioni articolari non causate da traumi.

Molte delle forme tuttora conosciute hanno una base genetica certa, tuttavia la forma più frequente di Ehlers-Danlos, ossia la ipermobile, non ha ancora una base genetica ma rimane diagnosticata solo tramite criteri clinici.

Obiettivo dello studio è di definire e descrivere le caratteristiche cliniche di pazienti, pediatrici e adulti, con diagnosi clinica e genetica di ED; di valutare la rilevanza delle manifestazioni cliniche confrontandole anche con i dati della letteratura e di esaminare alcune manifestazioni cliniche non annoverate tra i criteri noti di malattia, come possibili nuovi elementi di sospetto diagnostico

6.1 Segni e sintomi in EDS in popolazione adulta e pediatrica: Differenze e similarità

Nel nostro studio sono state analizzate le differenti manifestazioni della malattia nella popolazione adulta e in quella pediatrica. Dai dati emersi, si nota una riduzione della sintomatologia legata all'elasticità cutanea con l'aumentare dell'età, dovuta probabilmente alla normale riduzione di collagene a livello dermico. In particolare, la prevalenza di elasticità cutanea scende dal 68.8% nei pazienti pediatrici fino al 26.9% in pazienti adulti mentre la presenza di cicatrici atrofiche sale dal 43.8% nei pediatrici fino ad arrivare al 53.8% nella popolazione adulta.

Nella popolazione adulta si è visto sopraggiungere in molti casi una sintomatologia più severa e con complicanze di più alto rischio. Vi è spesso l'insorgenza di manifestazioni, quali aneurismi o prolapsi nei vari distretti corporei meno presenti nella popolazione pediatrica. Queste informazioni coincidono con quelle riportate in letteratura^{18,35}.

Le manifestazioni nei due sessi nella popolazione pediatrica e adulta rimangono pressoché uguali.

6.2 Manifestazioni cliniche

I dati analizzati confermano l'importanza dell'uso del Beighton Score come criterio diagnostico di EDS come conferma la letteratura⁷. Tale dato di per sé non è sufficiente ed è necessario venga soddisfatto almeno un altro criterio maggiore e/o altri criteri minori in modo da permettere una diagnosi differenziale tra EDS e altre malattie del connettivo come la Sindrome di Marfan o la Sindrome di Loeys-Dietz così come per escludere una semplice ipermobilità articolare generalizzata.

Come riportato in letteratura, forme diverse di EDS presentano criteri diagnostici maggiori e minori differenti, inoltre tutte le tipologie possiedono una mutazione genetica conosciuta ad eccezione della forma ipermobile.

In particolare, per la diagnosi di EDS di tipo ipermobile è necessaria la presenza di un Beighton positivo (>6 per i pazienti pediatrici 0-18 anni, >5 per i pazienti 19-50 anni e >4 per gli over 50) unito ad uno dei parametri tra cui: almeno 5 criteri diagnostici, familiarità per la malattia o complicanze muscoloscheletriche.

Il 38.1% della popolazione studiata presenta 5 o più criteri diagnostici di malattia contro il 61.1% che ne possiede 4 o meno. Questo è dovuto alla concomitante presenza nella popolazione con meno criteri diagnostici di altri parametri di malattia come la familiarità o la presenza di complicanze muscoloscheletriche (caratterizzate da dolore alle articolazioni o dolore diffuso persistente) che permettono di avere, nonostante la presenza di ridotte manifestazioni, una diagnosi clinica di hEDS.

6.3 Predittori diagnostici di malattia

Tra le manifestazioni cliniche della coorte di studio sono stati analizzati tre segni di possibile interesse diagnostico.

Per quanto concerne la popolazione generale, la prevalenza di scoliosi precoce si rivela essere un dato spesso presente (il 40.5% della popolazione totale studiata) anche se non statisticamente significativo quando confrontato tra il gruppo di pazienti pediatrici e il gruppo di pazienti adulti (p value = 0.339). In particolare, all'interno del gruppo pediatrico, un solo bambino, quindi non rilevante dal punto di vista statistico, aveva presentato come primo elemento di sospetto una scoliosi molto precoce (esordio a 3 anni) sicuramente rilevante dal punto di vista clinico, data l'età di insorgenza, è noto che la scoliosi idiopatica giovanile abbia un esordio più tardivo.

Nella popolazione pediatrica invece risultano di interesse statistico la presenza di sublussazione dell'articolazione temporomandibolare (p value = 0.029) e la presenza di iperlassità distale nelle mani e nei piedi (p value = 0.029). Tali manifestazioni tendono a ridursi nella popolazione adulta probabilmente col subentrare di modificazioni legate alla pubertà e all'assetto ormonale, andando a manifestarsi come artrosi anziché come iperlassità.

Nelle linee guida questi due parametri non sono menzionati o utilizzati come criteri minori di diagnosi, è tuttavia presumibile pensare che abbiano un valore di predittività positivo abbastanza importante da poter essere presi in considerazione per un'eventuale rivalutazione dei criteri diagnostici.

Limitazioni dello studio

Il nostro studio presenta di limiti, quali la ridotta numerosità del campione analizzato e la mancanza di alcuni dati dovuta alla natura retrospettiva dello studio. I risultati preliminari descritti potrebbero, tuttavia, essere di spunto per ulteriori studi prospettici volti ad approfondire i nuovi segni clinici di sospetto emersi. È infatti comune la difficoltà di porre una diagnosi clinica precoce utilizzando i criteri diagnostici descritti in letteratura e in assenza di un supporto genetico.

7. CONCLUSIONI

Il nostro studio ha, come primo obiettivo, quello di analizzare e comprendere i molteplici aspetti di una malattia clinicamente complessa com'è la EDS.

Dall'analisi della nostra coorte, abbiamo esaminato un'ampia gamma di manifestazioni cliniche che accomunano i pazienti nel corso dell'iter diagnostico. Lo score di Beighton unito ad una clinica suggestiva rimangono la chiave per una diagnosi il più precoce possibile, soprattutto se parliamo di pazienti pediatrici. Va inoltre sempre contestualizzata la situazione clinica all'età e alle condizioni generali del paziente.

In secondo luogo, l'analisi genetica come accertamento diagnostico non sempre è efficace data la presenza di una forma di malattia a genetica sconosciuta, inoltre le tempistiche a riguardo rimangono tutt'ora lunghe e complesse.

I dati del nostro lavoro hanno confermato la prevalenza e la distribuzione dei segni e sintomi descritti in letteratura pur essendo emersi anche nuovi elementi clinici che potrebbero essere spunto di discussione per il futuro.

In conclusione, sono sicuramente necessari ulteriori studi a riguardo, possibilmente basati su una popolazione studio più ampia di pazienti; tuttavia, i parametri precedentemente menzionati nella popolazione pediatrica (presenza di sublussazione dell'ATM e di iperlassità distale) possono forse diventare in futuro parte dello score diagnostico in grado di velocizzare e rendere più semplice la diagnosi precoce di malattia.

8. RIFERIMENTI

1. National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. 2022. *Selected Heritable Disorders of Connective Tissue and Disability*. Washington, DC: The National Academies Press. pp 24-26
2. Judge, D. P., and H. C. Dietz. 2005. Marfan's syndrome. *Lancet* 366(9501):1965-1976.
3. Atwell K, Michael W, Dubey J, James S, Martonffy A, Anderson S, Rudin N, Schragger S. Diagnosis and Management of Hypermobility Spectrum Disorders in Primary Care. *J Am Board Fam Med*. 2021 Jul-Aug;34(4):838-848. doi: 10.3122/jabfm.2021.04.200374. PMID: 34312277.
4. Russek LN, Errico DM. Prevalence, injury rate and symptom frequency in generalized joint laxity and joint hypermobility syndrome in a "healthy" college population. *Clin Rheumatol* 2016;35:1029–39.
5. Reuter PR, Fichthorn KR. Prevalence of generalized joint hypermobility, musculoskeletal injuries, and chronic musculoskeletal pain among American university students. *Peer J* 2019;7:e7625.
6. Kumar B, Lenert P. Joint hypermobility syndrome: recognizing a commonly overlooked cause of chronic pain. *Am J Med* 2017;130:640–7.
7. Fikree A, Aziz Q, Grahame R. Joint hypermobility syndrome. *Rheum Dis Clin North Am* 2013;39:419–30.
8. Fikree A, Aziz Q, Grahame R. Joint hypermobility syndrome. *Rheum Dis Clin North Am* 2013;39:419–30.
9. Beighton P, Solomon L, Soskolne CL (1973) Articular mobility in an African population. *Ann Rheum Dis* 32(5):413–418
10. Smits-Engelsman B, Klerks M, Kirby A (2011) Beighton score: a valid measure for generalized hypermobility in children. *J Pediatr* 158(1):11–14
11. Singh H, McKay M, Baldwin J, Nicholson L, Chan C, Burns J, Hiller CE (2017) Beighton scores and cut-offs across the lifespan: cross-

sectional study of an Australian population. *Rheumatology (Oxford)* 56(11):1857–1864

12. Blackburn, P. R. et al. Bi-allelic alterations in AEBP1 lead to defective collagen assembly and connective tissue structure resulting in a variant of Ehlers–Danlos syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* 102, 696–705 (2018).
13. Steinmann, B., Royce, P. M. & Superti-Furga, A. in *Connective Tissue and its Heritable Disorders* (eds Royce, P. M. & Steinmann, B.) 431–523 (Wiley-Liss, 2002).
14. Pepin, M. G. et al. Survival is affected by mutation type and molecular mechanism in vascular Ehlers–Danlos syndrome (EDS type IV). *Genet. Med.* 16, 881–888 (2014).
15. Symoens, S. et al. Comprehensive molecular analysis demonstrates type V collagen mutations in over 90% of patients with classic EDS and allows to refine diagnostic criteria. *Hum. Mutat.* 33, 1485–1493 (2012).
16. Brady, A. F. et al. The Ehlers–Danlos syndromes, rare types. *Am. J. Med. Genet. C Semin. Med. Genet.* 175, 70–115 (2017)
17. Sulli A, Talarico R, Scirè CA, Avcin T, Castori M, Ferraris A, Frank C, Grunert J, Paolino S, Bombardieri S, Schneider M, Smith V, Cutolo M, Mosca M, Malfait F. Ehlers-Danlos syndromes: state of the art on clinical practice guidelines. *RMD Open.* 2018 Oct 18;4(Suppl 1):e000790. doi: 10.1136/rmdopen-2018-000790. PMID: 30402275; PMCID: PMC6203099.
18. Tinkle B, Castori M, Berglund B, Cohen H, Grahame R, Kazkaz H, Levy H. Hypermobile Ehlers-Danlos syndrome (a.k.a. Ehlers-Danlos syndrome Type III and Ehlers-Danlos syndrome hypermobility type): Clinical description and natural history. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2017 Mar;175(1):48-69. doi: 10.1002/ajmg.c.31538. Epub 2017 Feb 1. PMID: 28145611.
19. Rohrbach M, Vandersteen A, Yiş U, et al.: Phenotypic variability of the kyphoscoliotic type of Ehlers-Danlos syndrome (EDS VIA): clinical,

- molecular and biochemical delineation. *Orphanet J Rare Dis.* 2011;6:46. 10.1186/1750-1172-6-46
20. Malfait F, Francomano C, Byers P, et al.: The 2017 international classification of the Ehlers-Danlos syndromes. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2017;175(1):8–26. 10.1002/ajmg.c.31552
 21. Kivirikko KI, Myllylä R: Posttranslational Enzymes in the Biosynthesis of Collagen: Intracellular Enzymes. *Methods Enzymol.* 1982;82:245–304. 10.1016/0076-6879(82)82067-3
 22. Baumann M, Giunta C, Krabichler B, et al.: Mutations in FKBP14 Cause a Variant of Ehlers-Danlos Syndrome with Progressive Kyphoscoliosis, Myopathy, and Hearing Loss. *Am J Hum Genet.* 2012;90(2):201–216. 10.1016/j.ajhg.2011.12.004
 23. Walkden A, Burkitt-Wright E, Au L. Brittle cornea syndrome: current perspectives. *Clin Ophthalmol.* 2019 Aug 12;13:1511-1516. doi: 10.2147/OPHTH.S185287. PMID: 31496642; PMCID: PMC6698176.
 24. Kapferer-Seebacher I, Waisfisz Q, Boesch S, Bronk M, van Tintelen P, Gizewski ER, Groebner R, Zschocke J, van der Knaap MS. Periodontal Ehlers-Danlos syndrome is associated with leukoencephalopathy. *Neurogenetics.* 2019 Mar;20(1):1-8. doi: 10.1007/s10048-018-0560-x. Epub 2018 Dec 8. PMID: 30535813; PMCID: PMC6411670.
 25. Martín-Martín M, Cortés-Martín J, Tovar-Gálvez MI, Sánchez-García JC, Díaz-Rodríguez L, Rodríguez-Blanque R. Ehlers-Danlos Syndrome Type Arthrochalasia: A Systematic Review. *Int J Environ Res Public Health.* 2022 Feb 7;19(3):1870. doi: 10.3390/ijerph19031870. PMID: 35162892; PMCID: PMC8835098
 26. Kosho T, Mizumoto S, Watanabe T, Yoshizawa T, Miyake N, Yamada S. Recent Advances in the Pathophysiology of Musculocontractural Ehlers-Danlos Syndrome. *Genes (Basel).* 2019 Dec 29;11(1):43. doi: 10.3390/genes11010043. PMID: 31905796; PMCID: PMC7017038.
 27. Furuhata-Yoshimura M, Yamaguchi T, Izu Y, Kosho T. Homozygous splice site variant affecting the first von Willebrand factor A domain of

- COL12A1 in a patient with myopathic Ehlers-Danlos syndrome. *Am J Med Genet A*. 2023 Oct;191(10):2631-2639. doi: 10.1002/ajmg.a.63328. Epub 2023 Jun 23. PMID: 37353357.
28. Guarnieri V, Morlino S, Di Stolfo G, Mastroianno S, Mazza T, Castori M. Cardiac valvular Ehlers-Danlos syndrome is a well-defined condition due to recessive null variants in COL1A2. *Am J Med Genet A*. 2019 May;179(5):846-851. doi: 10.1002/ajmg.a.61100. Epub 2019 Mar 1. PMID: 30821104
29. Lorenz D, Kress W, Zaum AK, Speer CP, Hebestreit H. Report of two siblings with spondylodysplastic Ehlers-Danlos syndrome and B4GALT7 deficiency. *BMC Pediatr*. 2021 Jun 30;21(1):293. doi: 10.1186/s12887-021-02767-0. PMID: 34193099; PMCID: PMC8243911.
30. Van Damme T, Colige A, Syx D, Giunta C, Lindert U, Rohrbach M, Aryani O, Alanay Y, Simsek-Kiper PÖ, Kroes HY, Devriendt K, Thiry M, Symoens S, De Paepe A, Malfait F. Expanding the clinical and mutational spectrum of the Ehlers-Danlos syndrome, dermatosparaxis type. *Genet Med*. 2016 Sep;18(9):882-91. doi: 10.1038/gim.2015.188. Epub 2016 Jan 14. PMID: 26765342
31. Okuda-Ashitaka E, Matsumoto KI. Tenascin-X as a causal gene for classical-like Ehlers-Danlos syndrome. *Front Genet*. 2023 Mar 15;14:1107787. doi: 10.3389/fgene.2023.1107787. PMID: 37007968; PMCID: PMC10050494.
32. Olubajo F, Kaliaperumal C, Choudhari KA. Vascular Ehlers-Danlos Syndrome: Literature review and surgical management of intracranial vascular complications. *Clin Neurol Neurosurg*. 2020 Jun;193:105775. doi: 10.1016/j.clineuro.2020.105775. Epub 2020 Mar 3. PMID: 32197145.
33. Steinmann B, Royce PM, Superi-Furga A. 2002. The Ehlers–Danlos syndrome. In: PM Royce, B Steinmenn, editors. *Connective tissue and its heritable disorders. Molecular genetic and medical aspects*, 2nd Edition. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc. pp 446–451.

34. Møller MB, Kjær M, Svensson RB, Andersen JL, Magnusson SP, Nielsen RH. 2014. Functional adaptation of tendon and skeletal muscle to resistance training in three patients with genetically verified classic Ehlers Danlos Syndrome. *Muscles Ligaments Tendons J* **4**: 315–323
35. Malfait F, Wenstrup R, De Paepe A. 2010. Clinical and genetic aspects of Ehlers–Danlos syndrome, classic type. *Genet Med* **12**: 10.
36. Simmonds JV, Keer RJ. 2007. Hypermobility and the hypermobility syndrome. *Man Ther* **12**: 298–309
37. Palmer S, Bailey S, Barker L, Barney L, Elliot A. 2014. The effectiveness of therapeutic exercise for joint hypermobility syndrome: A systematic review. *Physiotherapy* **100**: 220–227
38. Mandelbaum DE, de la Monte SM. 2017. Adverse structural and functional effects of marijuana on the brain: Evidence reviewed. *Pediatr Neurol* **66**: 12–20
39. Abdel Shaheed C, Maher CG, Williams KA, McLachlan AJ. 2017. Efficacy and tolerability of muscle relaxants for low back pain: Systematic review and meta-analysis. *Eur J Pain* **21**: 228–237.
40. Chou R, Deyo R, Friedly J, Skelly A, Hashimoto R, Weimer M, Fu R, Dana T, Kraegel P, Griffin J, Grusing S, Brodt E. 2016. *Noninvasive treatments for low back pain* [Internet]. AHRQ Comparative Effectiveness Reviews, Report 16-EHC004-EF. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (US). PMID: 26985522
41. Bathen T, Hangmann AB, Hoff M, Andersen LO, Rand-Hendriksen S. 2013. Multidisciplinary treatment of disability in Ehlers-Danlos syndrome hypermobility type/hypermobility syndrome: A pilot study using a combination of physical and cognitive-behavioral therapy on 12 women. *Am J Med Genet Part A* **161A**: 3005–3011.
42. Castori M, Celletti C, Camerota F, Grammatico P. 2011b. Chronic fatigue syndrome is commonly diagnosed in patients with Ehlers-Danlos syndrome hypermobility type/joint hypermobility syndrome. *Clin Exp Rheumatol* **29**: 597–598.

43. Edmonds M, McGuire H, Price J. 2004. Exercise therapy for chronic fatigue syndrome. *Cochrane Database Syst Rev* **3**: CD003200.
44. Castori M, Camerota F, Celletti C, Grammatico P, Padua L. 2010a. Ehlers–Danlos syndrome hypermobility type and the excess of affected females: Possible mechanisms and perspectives. *Am J Med Genet Part Part A* **152A**: 2406–2408.
45. Quatman CE, Ford KR, Myer GD, Paterno MV, Hewett TE. 2008. The effects of gender and pubertal status on generalized joint laxity in young athletes. *J Sci Med Sport* **11**: 257–263.
46. von Kodolitsch Y, De Backer J, Schuler H, et al. Perspectives on the revised Ghent criteria for the diagnosis of Marfan syndrome. *Appl Clin Genet* 2015;8:137-55. 10.2147/TACG.S60472
47. Kirschner R, Hubmacher D, Iyengar G, et al. Classical and neonatal Marfan syndrome mutations in fibrillin-1 cause differential protease susceptibilities and protein function. *J Biol Chem* 2011;286:32810-23. 10.1074/jbc.M111.221804
48. Maeda J, Kosaki K, Shiono J, et al. Variable severity of cardiovascular phenotypes in patients with an early-onset form of Marfan syndrome harboring FBN1 mutations in exons 24-32. *Heart Vessels* 2016;31:1717-23. 10.1007/s00380-016-0793-2
49. Loeys BL, Dietz HC, Braverman AC, et al. The revised Ghent nosology for the Marfan syndrome. *J Med Genet* 2010;47:476-85. 10.1136/jmg.2009.072785
50. Bradley TJ, Bowdin SC, Morel CF, et al. The Expanding Clinical Spectrum of Extracardiovascular and Cardiovascular Manifestations of Heritable Thoracic Aortic Aneurysm and Dissection. *Can J Cardiol* 2016;32:86-99. 10.1016/j.cjca.2015.11.007
51. Loeys BL, Schwarze U, Holm T, et al. Aneurysm syndromes caused by mutations in the TGF-beta receptor. *N Engl J Med* 2006;355:788-98. 10.1056/NEJMoa055695

52. Maccarrick G, Black JH, 3rd, Bowdin S, et al. Loeys-Dietz syndrome: a primer for diagnosis and management. *Genet Med* 2014;16:576-87. 10.1038/gim.2014.11
53. Burgeson, R. E., El Adli, F. A., Kaitila, I. I. & Hollister, D. W. Fetal membrane collagens: identification of two new collagen alpha chains. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 73, 2579–2583 (1976).
54. Gay, S., Rhodes, R. K., Gay, R. E. & Miller, E. J. Collagen molecules comprised of alpha 1(V)-chains (B-chains): an apparent localization in the exocytoskeleton. *Coll. Relat. Res.* 1, 53–58 (1981)
55. Imamura, Y., Scott, I. C. & Greenspan, D. S. The pro-alpha3(V) collagen chain. Complete primary structure, expression domains in adult and developing tissues, and comparison to the structures and expression domains of the other types V and XI procollagen chains. *J. Biol. Chem.* 275, 8749–8759 (2000).
56. Birk, D. E. Type V collagen: heterotypic type I/V collagen interactions in the regulation of fibril assembly. *Micron* 32, 223–237 (2001).
57. Birk, D. E., Fitch, J. M., Babiarz, J. P. & Linsenmayer, T. F. Collagen type I and type V are present in the same fibril in the avian corneal stroma. *J. Cell Biol.* 106, 999–1008 (1988).
58. Wenstrup, R. J., Florer, J. B., Cole, W. G., Willing, M. C. & Birk, D. E. Reduced type I collagen utilization: a pathogenic mechanism in COL5A1 haplo-insufficient Ehlers–Danlos syndrome. *J. Cell. Biochem.* 92, 113–124 (2004).
59. Wenstrup, R. J. et al. Type V collagen controls the initiation of collagen fibril assembly. *J. Biol. Chem.* 279, 53331–53337 (2004).
60. Castori, M. et al. A framework for the classification of joint hypermobility and related conditions. *Am. J. Med. Genet. C Semin. Med. Genet.* 175, 148–157 (2017)
61. Emanuel, B. S., Cannizzaro, L. A., Seyer, J. M. & Myers, J. C. Human alpha 1(III) and alpha 2(V) procollagen genes are located on the long arm of chromosome 2. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 82, 3385–3389 (1985)

62. Gelse, K., Poschl, E. & Aigner, T. Collagens — structure, function, and biosynthesis. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 55, 1531–1546 (2003)
63. Romanic, A. M., Adachi, E., Kadler, K. E., Hojima, Y. & Prockop, D. J. Copolymerization of pNcollagen III and collagen I. pNcollagen III decreases the rate of incorporation of collagen I into fibrils, the amount of collagen I incorporated, and the diameter of the fibrils formed. *J. Biol. Chem.* 266, 12703–12709 (1991)
64. Liu, X., Wu, H., Byrne, M., Krane, S. & Jaenisch, R. Type III collagen is crucial for collagen I fibrillogenesis and for normal cardiovascular development. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 94, 1852–1856 (1997).
65. D'Hondt, S. et al. Type III collagen affects dermal and vascular collagen fibrillogenesis and tissue integrity in a mutant Col3a1 transgenic mouse model. *Matrix Biol.* 70, 72–83 (2018).
66. Symoens, S. et al. Comprehensive molecular analysis demonstrates type V collagen mutations in over 90% of patients with classic EDS and allows to refine diagnostic criteria. *Hum. Mutat.* 33, 1485–1493 (2012).
67. Schwarze, U., Atkinson, M., Hoffman, G. G., Greenspan, D. S. & Byers, P. H. Null alleles of the COL5A1 gene of type V collagen are a cause of the classical forms of Ehlers–Danlos syndrome (types I and II). *Am. J. Hum. Genet.* 66, 1757–1765 (2000).
68. Wenstrup, R. J. et al. COL5A1 haploinsufficiency is a common molecular mechanism underlying the classical form of EDS. *Am. J. Hum. Genet.* 66, 1766–1776 (2000).
69. Malfait, F. & De Paepe, A. Molecular genetics in classic Ehlers–Danlos syndrome. *Am. J. Med. Genet. C Semin. Med Genet.* 139C, 17–23 (2005)
70. Ritelli, M. et al. Clinical and molecular characterization of 40 patients with classic Ehlers–Danlos syndrome: identification of 18 COL5A1 and 2 COL5A2 novel mutations. *Orphanet J. Rare Dis.* 8, 58 (2013).

71. Wenstrup, R. J. et al. Murine model of the Ehlers–Danlos syndrome. *col5a1* haploinsufficiency disrupts collagen fibril assembly at multiple stages. *J. Biol. Chem.* 281, 12888–12895 (2006)
72. Chanut-Delalande, H. et al. Development of a functional skin matrix requires deposition of collagen V heterotrimers. *Mol. Cell Biol.* 24, 6049–6057 (2004).
73. Bowen, J. M. et al. Ehlers–Danlos syndrome, classical type. *Am. J. Med. Genet. C Semin. Med. Genet.* 175, 27–39 (2017).
74. Symoens, S. et al. COL5A1 signal peptide mutations interfere with protein secretion and cause classic Ehlers–Danlos syndrome. *Hum. Mutat.* 30, E395–E403 (2009).
75. Wenstrup, R. J., Langland, G. T., Willing, M. C., D’Souza, V. N. & Cole, W. G. A splice-junction mutation in the region of COL5A1 that codes for the carboxyl propeptide of pro alpha 1(V) chains results in the gravis form of the Ehlers–Danlos syndrome (type I). *Hum. Mol. Genet.* 5, 1733–1736 (1996).
76. De Paepe, A., Nuytinck, L., Hausser, I., Anton-Lamprecht, I. & Naeyaert, J. M. Mutations in the COL5A1 gene are causal in the Ehlers–Danlos syndromes I and II. *Am. J. Hum. Genet.* 60, 547–554 (1997).
77. Beighton, P., De Paepe, A., Steinmann, B., Tsipouras, P. & Wenstrup, R. J. Ehlers–Danlos syndromes: revised nosology, Villefranche, 1997. Ehlers–Danlos National Foundation (USA) and Ehlers–Danlos support group (UK). *Am. J. Med. Genet.* 77, 31–37 (1998)
78. Malfait, F. et al. The 2017 international classification of the Ehlers–Danlos syndromes. *Am. J. Med. Genet. Part. C, Semin. Med. Genetics* 175, 8–26 (2017).
79. Tinkle, B. et al. Hypermobility Ehlers–Danlos syndrome (a.k.a. Ehlers–Danlos syndrome type III and Ehlers–Danlos syndrome hypermobility type): clinical description and natural history. *Am. J. Med. Genet. C Semin. Med. Genet.* 175, 48–69 (2017).