



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**Α΄ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ: ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ Χ.ΚΑΝΑΚΑ-GANTENBEIN**

**«Διερεύνηση της ποικιλίας στην έκφραση
των café-au-lait κηλίδων σε παιδιά
με Νευροϊνωμάτωση τύπου 1
και συσχέτιση με τον γονότυπο»**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**Νάση Σ. Λαμπρινή, MD, MCs
Παιδίατρος, Μετεκπαιδευθείσα στην Παιδιατρική Δερματολογία
Στρατιωτικός Ιατρός**

ΑΘΗΝΑ, 2023

*Στον σύζυγό μου Πέτρο
και την κόρη μας Νάγια*

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**ΝΑΣΗ Σ. ΛΑΜΠΡΙΝΗ
ΠΑΙΔΙΑΤΡΟΣ**

ΑΘΗΝΑ 2023

Ημερομηνία κατάθεσης αίτησης διατριβής στην Ιατρική Σχολή: 12 Ιανουαρίου 2018

(Αρ.Πρωτ178015228)

Ορισμός Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: Ιατρική Σχολή Ε.Κ.Π.Α, Αρ. Πρωτ: 1718018544, η συνεδρίαση έλαβε χώρα την 13η Φεβρουαρίου 2018.

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

1) Ως επιβλέπων τη διατριβή, ΚΑΤΤΑΜΗΣ ΑΝΤΩΝΗΣ

2) ΠΟΝΣ-ΡΟΝΤΡΙΓΚΕΘ ΜΑΡΙΑ-ΡΟΖΕ

3) ΧΡΟΥΣΟΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ

Αλλαγή επιβλέποντος καθηγητή: Μετά από την αίτηση της υποψήφιας διδάκτορα, ορίστηκε ως επιβλέπουσα καθηγήτρια η ΠΟΝΣ-ΡΟΝΤΡΙΓΚΕΘ ΜΑΡΙΑ-ΡΟΖΕ.

Έγκριση διεξαγωγής της διδακτορικής διατριβής από το επιστημονικό συμβούλιο του Γενικού Νοσοκομείου «Παίδων Η Αγία Σοφία», με αριθμό πρωτοκόλλου: 4559/23/02/18.

Ημερομηνία κατάθεσης θέματος και ερευνητικού πρωτοκόλλου στην Ιατρική Σχολή: 20

Απριλίου 2018 (Απ.Πρωτ: 1718024879)

Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής: Καθηγητής Γεράσιμος Δ. Σιάσιος

Ονόματα μελών 7μελούς Εξεταστικής Επιτροπής (κατά σειρά όπως ορίστηκαν από τη Γενική Συνέλευση της Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ την 28/6/23 αρ.πρωτ:60603):

1) Γεώργιος Χρούσος Ομότιμος Καθηγητής Παιδιατρικής,

Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών

2) Χριστίνα Κανακά-Gantenbein Καθηγήτρια Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας,

Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών

3) Καττάμης Αντώνης Καθηγητής Παιδιατρικής Αιματολογίας-Ογκολογίας,

Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών

4) Μαρία Τζέτη Καθηγήτρια Γενετικής, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών

5) Αθανάσιος Μίχος Καθηγητής Παιδιατρικής-Λοιμωξιολογίας,

Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών

6) Μαρία-Ροζέ Πονς-Ροντρίγκεθ Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Παιδονευρολογίας,

Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών (Επιβλέπουσα)

7) Φλώρα Μπακοπούλου Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Εφηβικής Παιδιατρικής

Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών

Βαθμός με τον οποίο έγινε δεκτή η διατριβή: Άριστα

Ημερομηνία: 3-7-2023

Ευχαριστίες

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά και εκ βαθέων ψυχής την επιβλέπουσά μου και Καθηγήτρια Παιδιατρικής Ε.Κ.Π.Α κ. Roser Pons . Κυρίως διότι μου έδωσε την ευκαιρία να ξεκινήσω τη διατριβή μου και επιπρόσθετα διότι ήταν δίπλα μου και ποτέ απέναντί μου σε όλη τη διάρκεια εκπόνησής της, πάντα καλοπροαίρετη, υπόδειγμα αξιοπρεπούς και κατηρτισμένου επιστήμονα , με άριστη κριτική σκέψη και καινούργιες πρωτοποριακές ιδέες.

Κατόπιν θα ήθελα να απευθύνω τις βαθιές μου ευχαριστίες στον Αλέξιο Αλεξόπουλο παιδίατρο με μετεκπαίδευση στην Παιδιατρική δερματολογία, ο οποίος ήταν δάσκαλος, αρωγός και πραγματικός φίλος στο όμορφο αυτό ταξίδι μου και με τις γνώσεις του, την οξυδέρκειά του και την ηθική του ακεραιότητα, με βοήθησε να το φέρω εις πέρας.

Εν συνεχεία ευχαριστώ θερμά τον Καθηγητή Παιδιατρικής και Αιματολογίας κ Αντώνη Καττάμη, μέλος της τριμελούς μου επιτροπής, του οποίου η συνδρομή υπήρξε καθοριστική σε όλα τα στάδια της διατριβής μου. Στήριξε την υποψηφιότητά μου από την αρχή και ήταν πάντα εκεί όταν χρειάστηκα την επιστημονική του βοήθεια για να προχωρήσω.

Θερμότατες ευχαριστίες θέλω να αποδώσω και στον καθηγητή μου Παιδιατρικής Ε.Κ.Π.Α κ Γεώργιο Χρούσο, που είχα την μεγάλη τιμή να τον έχω στην τριμελή μου επιτροπή. Όντας ειδικευόμενη στην Α Παιδιατρική Κλινική του Πανεπιστημίου Αθηνών κατά τη διάρκεια της πολυετούς θητείας του ως Καθηγητή της Κλινικής , μόνο τεράστια συγκίνηση και ευγνωμοσύνη μπορώ να εκφράσω που είχα την ευκαιρία να μοιραστώ μαζί του τις ιδέες μου και να γίνω αποδέκτης του πλούτου των γνώσεών του και της σοφίας του.

Επίσης οφείλω να ευχαριστήσω το Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής της Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ όσο και τη νυν διευθύντρια του τμήματος καθηγήτρια κ Μαρία Τζέτη για την στήριξή τους σε όλη τη διάρκεια αυτής της μελέτης.

Περαιτέρω θέλω να ευχαριστήσω την κ Ελευθερία Κοκκίνου, Παιδίατρο με μετεκπαίδευση στην Παιδιατρική Νευρολογία, που υπήρξε εξαιρετική συνεργάτης και συνέβαλλε σε μέγιστο βαθμό οπουδήποτε και αν απαιτούνταν.

Το προσωπικό, οι νοσηλεύτριες και η γραμματειακή υποστήριξη των Εξωτερικών Ιατρείων της Ογκολογικής Μονάδας «Ελπίδα» του Νοσοκομείου

Παίδων «Η Αγία Σοφία» , όπου έλαβε χώρα η διεξαγωγή του Ιατρείου Νευροδερματικών Νοσημάτων , υπήρξαν άριστοι συνεργάτες.


Οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένειά μου και ιδιαίτερα στον πατέρα μου Στέλλιο που είναι ο πιο σοφός, καλόψυχος και γενναιόδωρος άνθρωπος που γνωρίζω και στον άντρα μου Πέτρο που στάθηκε ακλόνητος και καλοπροαίρετος σε όλη αυτή την επίπονη προσπάθεια. Επιπλέον στις αδελφές μου Δέσποινα, που ως ογκολόγος ήταν πάντα εύστοχη στις παρατηρήσεις της και την Βασιλική-Αγγελική που με τις γνώσεις της στο μάρκετινγκ και την πληροφορική μου παρείχε αμέριστη βοήθεια καθ' όλη τη διάρκεια της προσπάθειάς μου.

Τέλος θέλω να απευθύνω θερμότες ευχαριστίες στα μέλη της επταμελούς επιτροπής, κυρίες και κυρίους Χριστίνα Κανακά Gantenbein, Αθανάσιο Μίχο και Φλώρα Μπακοπούλου για την καθοριστική συμβολή τους στην ολοκλήρωση της διατριβής μου.

ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΗ

(Αρχαίο κείμενο)

ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟΣ ΟΡΚΟΣ



ΘΗΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΩΝ
ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΩΝ ΚΑΙ ΥΓΙΑΝ ΚΑΙ
ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝΤΑΣ ΤΕ
ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ ΙΣΤΟΡΑΣ ΜΟΙ ΕΥΜΕΝΟΣ
ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ
ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΟΡΚΩΝ ΤΩΝΔΕ ΚΑΙ
ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ ΗΓΗΣΑΣΘΑΙ
ΜΕΝ ΤΩΝ ΔΙΔΑΞΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ
ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ
ΕΜΟΙ ΣΙΚΑ ΕΒΙΘΥΚΟΙΝ ΞΑΣΘΑΙ ΚΑΙ
ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΣΙΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ Ξ
ΞΥΤΕΘΥ ΑΔΕΛΦΟΙ ΣΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝΕΙΝ ΑΡΡΕΣΙ ΚΑΙ ΔΙΔΑΞΕΙΝ
ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΗΝ ΧΡΗΣΙΖΩ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ, ΑΝΕΥ
ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΣ ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ
ΤΗΣ ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ

ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΗ
(Νεοελληνική μετάφραση)

"Ορκίζομαι στον Απόλλωνα τον Ιατρό και στον Ασκληπιό και στην Υγεία και στην πανάκεια και σ όλους τους Θεούς επικαλούμενος την μαρτυρία τους, να τηρήσω πιστά κατά τη δύναμη και την κρίση μου αυτό τον όρκο και το συμβόλαιό μου αυτό. Να θεωρώ αυτόν που μου δίδαξε αυτή την τέχνη ίσο με τους γονείς μου και να μοιραστώ μαζί μου τα υπάρχοντά μου και τα χρήματά μου αν έχει ανάγκη φροντίδας.

Να θεωρώ τους απογόνους του ίσους με τα αδέρφια μου και να τους διάξω την τέχνη αυτή αν θέλουν να τη μάθουν, χωρίς αμοιβή και συμβόλαιο και να μεταδώσω με παραγγελίες, οδηγίες και συμβουλές όλη την υπόλοιπη γνώση μου και στα παιδιά μου και στα παιδιά εκείνου με δίδαξε και στους άλλους μαθητές που έχουν κάνει γραπτή συμφωνία μαζί μου και σε αυτούς που έχουν ορκισθεί στον ιατρικό νόμο και σε κανέναν άλλο και να θεραπεύω τους πάσχοντες κατά τη δύναμή μου και την κρίση μου χωρίς ποτέ, εκουσίως, να τους βλάψω ή να τους αδικήσω. Και να μη δώσω ποτέ σε κανένα, έστω κι αν μου το ζητήσει, θανατηφόρο φάρμακο, ούτε να δώσω ποτέ τέτοια συμβουλή. Ομοίως να μη δώσω ποτέ σε γυναίκα φάρμακο για να αποβάλει. Να διατηρήσω δε τη ζωή μου και την τέχνη μου καθαρή και αγνή. Και να μη χειρουργήσω πάσχοντες από λίθους αλλά να αφήσω την πράξη αυτή για τους ειδικούς. Και σε όποια σπίτια κι αν μπω, να μπω για την ωφέλεια των πασχόντων αποφεύγοντας κάθε εκούσια αδικία και βλάβη και κάθε γενετήσια πράξη και με γυναίκες και με άνδρες, ελεύθερους και δούλους. Και ό,τι δω ή ακούσω κατά την άσκηση του επαγγέλματός μου, ή κι εκτός, για τη ζωή των ανθρώπων, που δεν πρέπει ποτέ να κοινοποιηθεί, να σιωπήσω και να το τηρήσω μυστικό. Αν τον όρκο μου αυτό τηρήσω πιστά και δεν τον αθετήσω, είτε να απολαύσω για πάντα την εκτίμηση όλων των ανθρώπων για τη ζωή μου και για την τέχνη μου, αν όμως παραβώ και αθετήσω τον όρκο μου να υποστώ τα αντίθετα από αυτά".

Νάση Σ. Λαμπρινή

Σύντομο Βιογραφικό σημείωμα

Κατάγομαι από τον Πολύγυρο Ιωαννίνων και μεγάλωσα σε όλη την επικράτεια της Ελλάδας αλλάζοντας κάθε διετία περίπου τόπο διαμονής, ακολουθώντας την εργασία του πατέρα μου (Αξιωματικός του Ελληνικού Στρατού).

Σε όλες τις σχολικές βαθμίδες υπήρξα αριστούχα μαθήτρια και σημαιοφόρος και αποφοίτησα από το Γενικό Λύκειο Τρικάλων με βαθμό απολυτηρίου, Άριστα, (19 11/12).

Εισήχθη με πανελλαδικές εξετάσεις το 1997 στη Στρατιωτική Σχολή Αξιωματικών Σωμάτων (Σ.Σ.Α.Σ), Τμήμα Ιατρικής Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης με σειρά επιτυχίας 7^η. Αποφοίτησα το 2003 με Βαθμό Πτυχίου: «Λίαν Καλώς» και με σειρά επιτυχίας 1^η (αρχηγός τάξης 2003 Σ.Σ.Α.Σ.).

Ακολούθησε εκπαίδευσή μου στην Σχολή Εκπαίδευσης Υγειονομικού στο 401 Γενικό Στρατιωτικό Νοσοκομείο Αθηνών (Αεροδιακομιδές, Πρώτες Βοήθειες, Σ.Α.Β). Για το επόμενο έτος έλαβα ειδική εκπαίδευση σε εξειδικευμένο σχολείο της Ελβετίας στην Ιατρική Προσέγγιση για θέματα Πυρηνικού- Βιολογικού- Ραδιολογικού- Χημικού πολέμου. Είμαι κάτοχος του διπλώματος Advanced Life Trauma Support (A.T.L.S)(Απρίλιος 2004) και του διπλώματος «Εξειδικευμένη υποστήριξη της ζωής στα παιδιά», European Resuscitation Council, E.R.C., E.L.S PROVIDER COURSE , Ελληνική Εταιρεία Καρδιοαναπνευστικής Αναζωογόνησης (Ε.Ε.Κ.Α.Α.) (Μάϊος 2006).

Ειδικεύθηκα στην Παιδιατρική στην Α΄ Παιδιατρική Κλινική του Πανεπιστημίου Αθηνών και για 4 συναπτά έτη (Οκτώβριος 2006-Νοέμβριος 2010). Μετά το πέρας της ειδίκευσής μου και κατόπιν γραπτών και προφορικών εξετάσεων, μου απονεμήθηκε το 2010 ο τίτλος ειδικότητας της Παιδιατρικής από τη Νομαρχία Αττικής.

Από το 2010 εργάζομαι στο Παιδιατρικό Ιατρείο του 401 Γ.Σ.Ν.Α, ως αναπληρώτρια Διευθύντρια και διατηρώ προσωπικό Ιατρείο στην Αγία Παρασκευή Αττικής. Επιπρόσθετα συνεργάζομαι με Ιδιωτική Παιδιατρική Κλινική της Αττικής.

Για την μετεκπαίδευση μου στην Παιδιατρική Δερματολογία, ασκήθηκα για ένα (1) έτος (Νοέμβριος 2016-Δεκέμβριος 2017) στην Δερματολογία ενηλίκων στην Δερματολογική Κλινική του 401 Γ.Σ.Ν.Α και κατόπιν από τον Μάιο 2017 έως και τον Ιούλιο του 2020 στην Μονάδα Παιδιατρικής Δερματολογίας της Α΄ Παιδιατρικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, καθ' ότι μεσολάβησε και η γέννηση της μονάκριβης κορούλας μου Νάγιας.

Είμαι κάτοχος του Μεταπτυχιακού διπλώματος Ειδίκευσης στο πρόγραμμα μεταπτυχιακών σπουδών του Εθνικού Και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών «Κλινική Παιδιατρική Και Νοσηλευτική Έρευνα», με βαθμό «9,49» (Ιούλιος 2014).

Επιπλέον είμαι κάτοχος του Μετεκπαιδευτικού προγράμματος Εθνικού Και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών «Αξιολόγηση και αντιμετώπιση νηπίων, παιδιών και εφήβων με διαταραχή ελλειμματικής προσοχής-Υπερκινητικότητας (Δ.Ε.Π.Υ)», με βαθμό «91%» (Ιούνιος 2015).

Συμμετέχω ενεργά στο εκπαιδευτικό και επιστημονικό πρόγραμμα της Α΄ Παιδιατρικής Κλινικής Πανεπιστημίου Αθηνών (κλινικές μελέτες, βιβλιογραφικές ενημερώσεις, παρουσιάσεις από αμφιθεάτρου). Απαριθμώ αρκετές ανακοινώσεις σε Ελληνικά Συνέδρια και συνέδρια του Εξωτερικού. Τέλος έχω συμμετάσχει αρκετές φορές σε στρογγυλές τράπεζες ως ομιλήτρια.

Είμαι μέλος της Ελληνικής Εταιρείας Παιδιατρικής Δερματολογίας, της E.S.P.D (European Society for Pediatric Dermatology) από το 2016 και της I.S.P.D (International Society of Pediatric Dermatology) από το 2022.

Δημοσιεύσεις που προέκυψαν από την παρούσα διατριβή, μέχρι τη στιγμή της κατάθεσής της:

- «Development of a multidisciplinary clinic of neurofibromatosis type 1 and other neurocutaneous disorders in Greece. A 3-year experience». Kokkinou E, Roka K, Alexopoulos A, Tsina E, Nikas I, Krallis P, Thanopoulou I, Nasi L, Makrygianni E, Tsoutsou E, Kosma K, Tsipi M, Tzetis M, Frysira H, Kattamis A, Pons R. Postgrad Med. 2019 Sep;131(7):445-452.DOI: 10.1080/00325481.2019.1659708.

- «Characteristics of Café-au-lait Macules and their Association with the Neurofibromatosis type I Genotype in a Cohort of Greek Children». Lamprini Nasi, Alexios Alexopoulos, Eleftheria Kokkinou, Kleoniki Roka, Maria Tzetis, Maria Tsiipi, Talia Kakourou, Christina Kanaka-Gantenbein, George Chrousos, Antonis Kattamis, Roser Pons and The Agia Sophia Neurocutaneous Group. Acta Derm Venereol 2023; 103: adv5758.DOI: 10.2340/actadv.v103.5758

Προφορικές και γραπτές ανακοινώσεις που προέκυψαν από τα δεδομένα της διατριβής (σε Ελλάδα και Ευρώπη):

- «Management of Neurofibromatosis (NF): Three year experience of a Paediatric Clinic in Greece». Πόστερ στο Συνέδριο Neurofibromatosis Global Conference in Paris 2018, Σελίδα 207 στο βιβλίο περιλήψεων.
- 13th European Paediatric Neurology Society Congress(ESPN) 2019, πόστερ 07-25: «Multidisciplinary Management of Neurofibromatosis type 1 (NF-1): The experience from two (2) pediatric hospitals in Greece»
- World Congress of Pediatric Dermatology (WCPD) 2021 ,πόστερ14,Σελίδα 50 στο βιβλίο περιλήψεων : «Investigation of variation in phenotypic variability of café-au-lait spots in children with type 1 Neurofibromatosis and association with genotype»
- 10^η Ημερίδα της Ελληνικής Εταιρείας Παιδιατρικής Δερματολογίας , ομιλία : «Οζώδης σκλήρυνση και Νευροϊνωμάτωση»

Υπεύθυνη δήλωση

Η παρούσα διατριβή υποβάλλεται προς συμπλήρωση των απαιτήσεων για απονομή Διδακτορικού Τίτλου του Πανεπιστημίου Αθηνών. Είναι προϊόν πρωτότυπης εργασίας αποκλειστικά δικής μου, εκτός των περιπτώσεων που ρητώς αναφέρονται μέσω βιβλιογραφικών αναφορών, σημειώσεων ή και άλλων δηλώσεων.

Υπογραφή

Νάση Λαμπρινή του Στυλιανού

Ημερομηνία

03/07/2023

“Διερεύνηση της ποικιλίας στην έκφραση των café-au-lait κηλίδων σε παιδιά με Νευροϊνωμάτωση τύπου 1 και συσχέτιση με τον γονότυπο”

Περιεχόμενα

Συντομογραφίες (με τη σειρά εμφάνισης στο κείμενο)	16
Πρόλογος.....	17
Περίληψη στα Ελληνικά	18
Περίληψη στα Αγγλικά (Abstract)	19
Εισαγωγή	20
1.1 Νευροϊνωμάτωση τύπου 1	20
1.1.1 Συμπτωματολογία.....	20
1.1.2 Διάγνωση	29
1.1.3 Επιδημιολογικά χαρακτηριστικά	34
1.2 Σύνδρομα με φαινοτυπική επικάλυψη με την NF1.....	38
1.2.1 Νευροϊνωμάτωση τύπου 2	38
1.2.2 Σβανωμάτωση (Schwannomatosis).....	40
1.2.3 Constitutional mismatch repair deficiency syndrome (CMMRD).....	40
1.2.4 Σύνδρομο Legius	41
1.2.5 Οικογενείς πολλαπλές CALMs	42
1.3 Νευροϊνωμάτωση τύπου 1 και κακοήθεια.....	42
1.4 NF1 γονίδιο.....	45
1.4.1 NF1 ψευδογονίδια.....	45
1.4.2 Νευροϊνωμίνη.....	46
1.5 NF1 μεταλλάξεις	47
1.6 Ανάλυση μεταλλάξεων NF1.....	48
1.1 Σκοπός	51
1.2 Σχεδιασμός μελέτης.....	52
1.3 Δειγματοληπτική μεθοδολογία.....	56
1.4 Περιβάλλον μελέτης	56
1.5 Τυχαιοποίηση	56
1.6 Στατιστική μεθοδολογία	57
1.7 Ηθικά και δεοντολογικά ζητήματα	58
1.8 Αποτελέσματα	59
1.8.1 Περιγραφικά χαρακτηριστικά.....	59
1.8.2 Ερευνητικά ερωτήματα	63

Συζήτηση.....	98
Βιβλιογραφικές αναφορές.....	105
Παράρτημα: Γενετικές παραλλαγές NF1 και άλλες δερματικές εκδηλώσεις.....	124

Συντομογραφίες (με τη σειρά εμφάνισης στο κείμενο)

NF1	Νευροϊνωμάτωση τύπου 1
NF2	Νευροϊνωμάτωση τύπου 2
JXG	Νεανικό ξανθοκοκκίωμα
JMML	Νεανική μυελομονοκυτταρική λευχαιμία
ΔΕΠΥ	Διαταραχή ελλειμματικής προσοχής-υπερκινητικότητας
ΔΝ	Δερματικά νευροϊνώματα
ΠΝ	Πλεγματοειδή νευροϊνώματα
ΥΝ	Υποδόρια νευροϊνώματα
MRI	Μαγνητική τομογραφία
MPNST	Κακοήθεις όγκοι της νευρικής θήκης
CMMRD	Constitutional mismatch repair deficiency syndrome
GTPase	Ras-γουανοσινοτριφωσφατάσης
MAPK	Μιτογόνος πρωτεϊνική κινάση
NGS	Μέθοδος αλληλουχίας νέας γενιάς
GWAS	Μελέτη συσχέτισης ολόκληρου του γονιδιώματος
SNP	Πολυμορφισμός ενός νουκλεοτιδίου
ΚΝΣ	Κεντρικό νευρικό σύστημα
M	Μέση τιμή
SD	Τυπική απόκλιση
Mdn	Διάμεση τιμή
IQR	Ενδοτεταρτημοριακό εύρος
N	Συχνότητα
N%	Σχετική συχνότητα
Ν.Ξ.Κ	Νεανικά Ξανθοκοκκιώματα
Ε.Π.Ν	Εξωτερικά Πλεγματοειδή Νευροϊνώματα

Πρόλογος

Η παρούσα διδακτορική διατριβή με τίτλο «Διερεύνηση της ποικιλίας στην έκφραση των café-au-lait κηλίδων σε παιδιά με Νευροϊνωμάτωση τύπου 1 και συσχέτιση με τον γονότυπο», εκπονήθηκε κατά τη διάρκεια των ακαδημαϊκών ετών 2016-2023, στην Α΄ Παιδιατρική Κλινική του Πανεπιστημίου Αθηνών.

Επιβεβαιώνω ότι η διδακτορική διατριβή μου είναι πρωτότυπη και αποτέλεσμα αποκλειστικά δικής μου εργασίας.

Σε αυτή την διδακτορική διατριβή, μελετήθηκε ο φαινότυπος των café-au-lait κηλίδων (CALMs) και έλαβε χώρα συσχέτισή τους με τον γονότυπο, για πρώτη φορά σε μια μεγάλη ομάδα ελληνόπουλων με γενετικά επιβεβαιωμένη NF1. Οι CALMs αποτελούν έναν πρώιμα εμφανιζόμενο και εύκολα προσπελάσιμο φαινότυπο σε παιδιά με NF1, όμως δεν έχουν εκτενώς μελετηθεί. Σκοπός της παρούσης ερευνητικής πρότασης είναι να διερευνήσουμε σε μεγαλύτερο βαθμό το φαινότυπο των CALMs παιδιών με NF1 και παράλληλα να τον συσχετίσουμε με τον γονότυπο.

Διαπιστώθηκε ότι οι ασθενείς με μεταλλάξεις παρανοηματικές και μετατόπισης πλαισίου στο γονίδιο NF1 είχαν υψηλότερη περιεκτικότητα σε μελανίνη στις CALMs από άλλους τύπους μεταλλάξεων NF1. Αυτό είναι σημαντικό επειδή η μέτρηση της μελάγχρωσης των CALMs είναι μια γρήγορη και εύκολη εξέταση που θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως εργαλείο πρόβλεψης για την αρχική εκτίμηση των ασθενών με NF1.

Περίληψη στα Ελληνικά

Ιστορικό: Οι Cafe-au-lait κηλίδες (CALMs) είναι το πιο χαρακτηριστικό κλινικό εύρημα στη Νευροϊνωμάτωση τύπου I (NF1).

Στόχος: Να περιγράψουμε σε μια προοπτική μελέτη κοορτής σε Ελληνόπουλα με τη διάγνωση της NF1 τον δερματολογικό τους φαινότυπο και να αναλύσουμε τα χαρακτηριστικά των CALMs και τη συσχέτισή τους με τον γονότυπο .

Μέθοδοι: Η ένταση της χρωστικής και η περιεκτικότητα σε μελανίνη των CALM μετρήθηκαν με φασματοφωτόμετρο στενής ζώνης.

Αποτελέσματα: Μελετήθηκαν εξήντα τρία παιδιά ηλικίας 6 μηνών έως 16 ετών. Η μέση περιεκτικότητα σε μελανίνη ήταν διαφορετική τόσο μεταξύ των ασθενών όσο και σε κάθε ασθενή ($p < 0,001$). Τα κορίτσια εμφάνισαν μεγαλύτερο αριθμό CALM από τα αγόρια ($p = 0,025$) και η περιεκτικότητα σε μελανίνη των CALMs ήταν χαμηλότερη στα κορίτσια ($p < 0,001$). Οι ασθενείς με παραλλαγές περικοπής πρωτεΐνης στο γονίδιο NF1 είχαν υψηλότερη περιεκτικότητα σε μελανίνη στις CALMs σε σχέση με τους άλλους τύπους γενετικών παραλλαγών $t(55) = 2,196, p = 0,032$. Επιπλέον, πλέγματοειδή νευροϊνώματα ανιχνεύθηκαν στην πλειονότητα των ασθενών με παραλλαγές περικοπής πρωτεΐνης, ενώ νεανικά ξανθοκοκκιώματα ανιχνεύθηκαν εξίσου σε ασθενείς με πρωτεϊνικές και μη πρωτεϊνικές παραλλαγές πρωτεΐνης.

Συμπεράσματα: Συμπερασματικά, οι CALMs με υψηλή περιεκτικότητα σε μελανίνη σχετίζονται με ασθενείς που φέρουν παραλλαγές που δεν περικόπτουν την πρωτεΐνη. Επομένως, η μέτρηση της έντασης της χρωστικής των CALMs θα μπορούσε ενδεχομένως να παρέχει χρήσιμες πληροφορίες για την αρχική αξιολόγηση ασθενών με NF1 και την πρόβλεψη της σοβαρότητας του μελλοντικού φαινοτύπου τους.

Λέξεις κλειδιά: νευροϊνωμάτωση, κηλίδες Café-au-lait, ένταση χρωστικής, μελανίνη, γονότυπος .

Περίληψη στα Αγγλικά (Abstract)

Background: *Cafe-au-lait* macules (CALMs) are the most distinctive clinical finding in *Neurofibromatosis type I* (NF1).

Objective: We aimed to describe in a prospective study of Greek children diagnosed with NF1 the dermatological phenotype and to analyze the characteristics of CALMs and their association with their genotype.

Methods: Pigment intensity and melatonin content of CALMs were measured with a narrowband spectrophotometer.

Results: Sixty three children aged 6 months to 16 years old were studied. The mean melanin content was different both among patients, and within each patient ($p < 0.001$). Females showed a higher number of CALMs than males ($p = 0.025$), and melanin content of CALMs was lower in females ($p < 0.001$). Patients with protein truncating variants in the NF1 gene had higher CALM melanin content than other types of genetic variants ($t(55) = 2.196, p = 0.032$). Plexiform neurofibromas were also detected in the majority of patients with protein truncating variants, while Juvenile xanthogranulomas were detected equally in patients with protein and non-protein truncating variants.

Conclusions: In conclusion, CALMs with high melatonin content are associated with patients carrying non-protein truncating variants. Therefore, measurement of CALM pigment intensity could potentially provide useful information for the initial assessment of patients with NF1 and the severity of their future phenotype.

Keywords: neurofibromatosis, *Café-au-lait* macules, pigment intensity, melanin, genotype

Keywords: neurofibromatosis, *Café-au-lait* macules, pigment intensity, melanin, genotype

1.1 Νευροϊνωμάτωση τύπου 1

Η νευροϊνωμάτωση τύπου 1 (NF1) είναι μία αυτοσωματική διαταραχή η οποία συνοδεύεται συχνά από την ανάπτυξη τόσο καλοήθων όσο και κακοήθων όγκων. Η NF1, που στο παρελθόν ήταν γνωστή ως νόσος του von Recklinghausen, οφείλοντας το όνομα της στον Friedrich Daniel Von Recklinghausen, προκαλείται από μεταλλάξεις στο ογκοκατασταλτικό γονίδιο NF1 που εδράζεται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 17 στη θέση {11.2(17q11.2)} (Wallace et al. 1990; G. F. Xu et al. 1990). Η NF1 αποτελεί ένα από τα πιο συνήθη μονογονικά σύνδρομα. Το αυτοσωματικό κυρίαρχο πρότυπο κληρονομικότητας της NF1 είναι γνωστό εδώ και αρκετά χρόνια και υποδηλώνει ότι ένας ασθενής με NF1 έχει 50% πιθανότητα να το κληροδοτήσει στους απογόνους του. Παρότι η NF1 είναι μια απλά προσδιορισμένη Μενδέλειος διαταραχή με πλήρη διεισδυτικότητα, χαρακτηρίζεται από εξαιρετικά σημαντική μεταβλητότητα στην κλινική έκφραση και αξιοσημείωτη δια- και ενδοοικογενειακή ποικιλότητα. Επιπρόσθετα, ο ρυθμός μετάλλαξης του γονιδίου NF1 είναι από τους υψηλότερους, κι ως εκ τούτου, περίπου οι μισές περιπτώσεις NF1 προκαλούνται από εκ νέου μεταλλάξεις (Huson et al. 1989).

1.1.1 Συμπτωματολογία

Η νευροϊνωμάτωση τύπου 1 είναι μια πολυσυστηματική νόσος που εκδηλώνεται με ποικιλία συμπτωμάτων. Η κλινική της εκδήλωση μπορεί να αφορά σχεδόν κάθε σύστημα οργάνων. Επειδή όμως πρόκειται για ένα νευροδερματικό σύνδρομο, και μάλιστα το πιο συχνό εκ των νευροδερματικών συνδρόμων, τα πιο χαρακτηριστικά σημεία επίδρασής του περιλαμβάνουν κυρίως το δέρμα, το κεντρικό νευρικό σύστημα και το περιφερικό νευρικό σύστημα, συστήματα που προέρχονται από το εξώδερμα. Συχνή είναι και η συμμετοχή οργάνων που προέρχονται από το μεσόδερμα (καρδιά, πνεύμονες, οστά κ.τ.λ). Τα κύρια χαρακτηριστικά της NF1 είναι οι μελαγχρωματικές διαταραχές, όπως για παράδειγμα οι συστάδες εφηλίδων σε ασυνήθιστα μέρη – όπως μασχάλες, βουβωνική χώρα και κάτω από το στήθος, οι καφεγαλακτόχρες (cafe-au-lait/CALMs) κηλίδες και τα οζίδια του Lisch στην ίριδα (Huson 2008). Ένα ακόμη ιδιαίτερο χαρακτηριστικό αυτού του συνδρόμου είναι ο σχηματισμός πολλαπλών

όγκων στο περιφερικό νευρικό σύστημα, που ονομάζονται νευροϊνώματα (Jouhilahti et al. 2011). Αυτές οι μελαγχρωματικές διαταραχές συναντώνται στην πλειονότητα των ασθενών με NF1 (Peltonen and Røyhönen 2012).

Δερματολογικές εκδηλώσεις

Η NF1 πρωτοεκδηλώνεται κατά την παιδική ηλικία, στην συντριπτική πλειοψηφία των ασθενών. Οι πιο συχνές αλλά και οι πιο σπάνιες ή αναφερόμενες στη βιβλιογραφία δερματικές εκδηλώσεις της νόσου αναφέρονται συγκεντρωτικά στον πίνακα 1. Τα πρώτα παθολογικά σημεία της νόσου στο δέρμα είναι οι CALMs που εκδηλώνονται στο 95% των ασθενών κατά τη διάρκεια του πρώτου έτους ζωής (DeBella, Szudek, and Friedman 2000) και στο 99% των ασθενών μέχρι την ενηλικίωση (McGaughran et al. 1999; Huson 2008). Οι CALMs είναι μελαγχρωματικές περιοχές του δέρματος που συχνά μεγαλώνουν προοδευτικά σε μέγεθος κι αριθμό κατά την παιδική ηλικία (Shah 2010). Οι μεμονωμένες οι CALMs είναι συνήθεις και στον γενικό πληθυσμό. Η παρουσία περισσότερων της μίας CALM ωστόσο, είναι λιγότερο συχνή. Η συχνότητα των πολλαπλών βλαβών, η οποία έχει σημασία σχετικά με την απαίτηση για πρόσθετη αξιολόγηση, έχει εξεταστεί σε αρκετές πληθυσμιακές μελέτες. Συνολικά, η παρουσία μίας ή περισσότερων CALMs εμφανίζεται πιο συνηθισμένη στην Αφροαμερικανική παρά στην Καυκάσια φυλή. Ο συνολικός επιπολασμός τουλάχιστον μίας CALM ,σημειώθηκε ότι υπήρχε στο 2,5% των νεογνών μεταξύ 18.155 νεογνών της Καυκάσιας, Αφροαμερικανικής, Λατινικής και μικτής φυλής (Alper J et al. 1979). Στην ίδια μελέτη των Alper J et al. 1979, μία CALM σημειώθηκε στο 0,3% των νεογνών της Καυκάσιας φυλής και στο 12% των νεογέννητων της Αφροαμερικανικής φυλής. Τρεις ή περισσότερες CALMs παρατηρήθηκαν στο 1,8% των Νεογέννητων της Αφροαμερικανικής φυλής αλλά όχι στα νεογέννητα της Καυκάσιας φυλής. Σε έναν ετερογενή πληθυσμό 4641 νεογνών στη Βοστώνη, ο συνολικός επιπολασμός των CALMs ήταν 2,7% με τουλάχιστον μία cafe'-au-lait κηλίδα να σημειώνεται στο 0,3% των νεογνών της Καυκάσιας φυλής και στο 18,3% των νεογνών της Αφρικανικής φυλής. Κανένα από τα νεογνά της Καυκάσιας φυλής δεν καταγράφηκε να έχει περισσότερες από μία CALMs ; στα νεογνά της Αφρικανικής φυλής, αντιθέτως, τα σκουρόχρωμα νεογνά είχαν 2 CALMs σε ποσοστό 4,4% και 3 ή περισσότερες CALMs σε ποσοστό

1,8% . Σε βρέφη και παιδιά προσχολικής ηλικίας, ο επιπολασμός τουλάχιστον μίας CALM αυξάνεται στο 25% όπως προσδιορίζεται από τη μελέτη κοορτής των Whitehouse D. Et all. 1966 , σε 365 παιδιά ηλικίας από 1 μηνός έως και 5 ετών. Σε παιδιά τώρα σχολικής ηλικίας, έχει σημειωθεί τουλάχιστον μία CALM στο 22% έως 36% των παιδιών (McLean DI et all. 1995). Σε πληθυσμό 1123 λευκών παιδιών από την Αυστραλία ηλικίας 6 έως 15 ετών, οι Rivers JK et all. 1995, βρήκαν το 26,1% των παιδιών να παρουσιάζονται με μία CALM το 6,9% με 2 CALM και το 3,3% των παιδιών με 3 ή περισσότερες CALMs.

Οι CALMs είναι καλοήθειες βλάβες με ομαλά όρια (τύπου «ακτής Καλιφόρνιας») ή με οδοντωτό περίγραμμα που ομοιάζουν με την «ακτή του Μείν». Αν και έχει προταθεί ότι οι CALMs με ομαλά όρια, τύπου της «ακτής Καλιφόρνιας» είναι πιο συχνά τυπικές της νευροϊνωμάτωση τύπου 1 (NF-1) ενώ οι CALMs με το πιο οδοντωτό περίγραμμα τύπου της «ακτής του Μείν» είναι πιο ενδεικτικές του συνδρόμου McCune-Albright, στην κλινική πράξη φαίνεται να υπάρχει μεγάλη μεταβλητότητα στη μορφολογία, τέτοια που αυτή η γενίκευση δεν είναι διαγνωστικά σημαντική. Μεμονωμένες, μεγάλες CALMs μπορεί να εμφανιστούν στον κορμό ή στα άκρα . Η διάμετρός τους είναι περί τα 2 με 5 εκατοστά στους ενήλικες , αλλά μπορεί να ποικίλλει από 2 χιλιοστά έως 20 εκατοστά (Kevin P.Boyd et al.2009.) και η κατανομή τους είναι τυχαία , αποκλείοντας μόνο το τριχωτό της κεφαλής, τις παλάμες και τα πέλματα (Kevin P.Boyd et al.2009.).

Αξίζει να αναφέρουμε ότι η νευροϊνωμάτωση-1 είναι σίγουρα το πιο κοινό και ευρέως αναγνωρισμένο σύνδρομο που σχετίζεται με τις CALMs, όμως υπάρχουν και αρκετά άλλα σύνδρομα με τα οποία οι CALMs έχουν συσχετιστεί, όπως η Νευροϊνωμάτωση τύπου -2 (NF2), το σύνδρομο McCune-Albright και του Noonan σύνδρομο. Μια ανασκόπηση κάποιων από των να χαρακτηριστικά αυτά σύνδρομα που σχετίζονται με τις CALMs παρουσιάζεται στον Πίνακα 3. Σημειώνεται εντούτοις, ότι ο πίνακας αυτός είναι συνοπτικός, αν και αρκετά περιεκτικός.

Τέλος, χρειάζεται αρκετές φορές να διαφοροδιαγνώσουμε τις CALMs από άλλες υπέρχρωματικές βλάβες (Πίνακας 4). Οι CALMs συχνά είναι δύσκολο να διαφοροδιαγνωσθούν από τους συγγενείς μελανοκυτταρικούς σπίλους, τους σπίλους τύπου Becker και μορφές του μελαγχρωματικού μωσαϊκισμού. Επίκτητες μελαγχρωματικές βλάβες, συμπεριλαμβανομένων των εφηλίδων, των

πανάδων και της μεταφλεγμονώδους υπερμελάγχρωσης μπορεί επίσης να εκληφθούν εσφαλμένα ως CALMs .

Άλλη συχνή και προεξάρχουσα δερματική εκδήλωση της NF1 εν συνεχεία, είναι οι εφηλίδες στην μασχालιαία και βουβωνική χώρα (σημείο του Crowe) οι οποίες εκδηλώνονται σε δέρμα που δεν έχει εκτεθεί στον ήλιο και εμφανίζονται συνήθως μεταγενέστερα των CALMs στους ασθενείς με NF1 (DGR Evans et al. 2017). Θεωρούνται σχεδόν παθognωμονικές δερματικές βλάβες και έχουν διάμετρο περί τα 1 με 3 mm. Η παθογένειά τους είναι άγνωστη, αλλά έχει προταθεί ότι μπορεί να προκληθούν από αυξημένη τριβή, θερμοκρασία και/ή υγρασία (Riccardi V M, 1981).

Επίσης σημειώνεται (αν και δεν έχει μελετηθεί εκτενώς) η γενικευμένη υπερμελάγχρωση που έχει παρατηρηθεί σε ασθενείς με NF1 σε σύγκριση στους ανεπηρέαστους γονείς ή αδέρφια τους.

Επιπρόσθετο σπάνιο δερματικό εύρημα σε ασθενείς με NF1 είναι οι μπλε-κόκκινες κηλίδες και οι ψευδοατροφικές κηλίδες. Και οι δύο αυτές δερματικές εκδηλώσεις της NF1, πιστεύεται ότι αντιπροσωπεύουν ασυνήθιστες παραλλαγές δερματικών νευροϊνωμάτων (Kara N Shah, 2010). Μάλιστα, η ομάδα των Zeller et.al. εξέτασε ιστολογικά μπλε-κόκκινες ωχρές κηλίδες και διαπίστωσε ότι τα παχιά τοιχώματα των αγγείων αποδίδονταν σε νευροϊνωματική διήθηση ιστού (Zeller J et al. 2002.)

Σε ότι αφορά τις σπάνιες δερματολογικές εκδηλώσεις της νόσου, συχνά αναφέρεται στη βιβλιογραφία η πιθανή σχέση ανάμεσα στην NF1, το νεανικό ξανθοκοκκίωμα (JXG), και τη νεανική μυελομονοκυτταρική λευχαιμία (JMML). Το 1990, οι Morier et al και αναθεώρησαν τη βιβλιογραφία, βρίσκοντας επιπλέον 23 περιπτώσεις. Μια ανάλυση το 1995 διαπίστωσε ότι ο κίνδυνος για εκδήλωση JMML σε ασθενείς με NF1 και JXG ήταν 20 έως 32 φορές υψηλότερος από ό, τι σε άλλους ασθενείς με NF1 που δεν είχαν ξανθοκοκκιώματα, αν και η μεθοδολογία αυτής της ανάλυσης είναι υπό αμφισβήτηση (Zvulunov A. et al. 1995.) Επιπλέον, οι Burgdorf WH, Zelger B. 2004. ανέλυσαν τη βιβλιογραφία και διαπίστωσαν ότι οι ασθενείς με NF1 είναι, πράγματι, σε ένα αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης JMML και JXG. Συμπερασματικά λοιπόν, οι γιατροί θα πρέπει να αναγνωρίζουν την κλινική εικόνα των χαρακτηριστικών της JMML (ηπατοσπληνομεγαλία, λεμφαδενοπάθεια, ωχρότητα, και πετέχειες) αλλά ο συστηματικός έλεγχος σε

ασθενείς με NF1 προς αυτή την κατεύθυνση, δεν έχει ουσιαστικά κάποιο σημαντικό όφελος.

Η ύπαρξη αναιμικού σπίλου στο δέρμα των ασθενών με NF1 είναι μια συχνή παρατήρηση, χωρίς όμως να έχει επιβεβαιωθεί η συσχέτιση με τη νόσο.

Οφθαλμολογικές εκδηλώσεις

Επιπρόσθετα, η εμφάνιση των οζιδίων του Lisch στην ίριδα, που αποτελούν αμαρτώματα στην επιφάνεια της ίριδας, παρατηρείται κατά κύριο λόγο στην πρώιμη παιδική ηλικία των παιδιών με NF1. Ο Karl Lisch, ένας Αυστριακός οφθαλμίατρος, το 1937 ανέφερε τη συσχέτιση αυτών των αμαρτωμάτων της ίριδας με την νευροϊνωμάτωση τύπου 1 (NF1). Ο όρος Lisch nodule χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον Riccardi το 1981 σε μια επίσημη δημοσίευση. Σπάνια απαντώνται σε ασθενείς που δεν πάσχουν από νευροϊνωμάτωση τύπου 1, αλλά από τμηματική νευροϊνωμάτωση. Πάνω από το 90% των ενηλίκων ασθενών με NF1 έχει οζίδια του Lisch στην ίριδα (Peltonen and Pöyhönen 2012; DGR Evans et al. 2017). Οι Kordic et al. το 2005 ανέφεραν τη συχνότητα εμφάνισης των οζιδίων του Lisch στην ίριδα στο 78%, σε μέγεθος δείγματος 132 ασθενών. Αν και τα οζίδια του Lisch δεν είναι ορατά κατά τη γέννηση, ο επιπολασμός τους αυξάνεται σταδιακά με την πρόοδο της ηλικίας μεταξύ των ασθενών με NF1 (Maharaj A et al. 2014]. Συγκεκριμένα, το ποσοστό επικράτησης των οζιδίων του Lisch, αναφέρεται ότι αυξάνεται προοδευτικά από τη γέννηση αγγίζοντας το ποσοστό 50% στην ηλικία των 5 ετών, το 75% στην ηλικία των 15 ετών και το 90% έως 95% στην ηλικία των 30 ετών. Είναι ασυμπτωματικά και δεν προκαλούν διαταραχές της όρασης. Αντιθέτως τα νευροϊνώματα του τριδύμου και των οφθαλμοκινητικών νεύρων προκαλούν διαταραχές στην κινητικότητα των βλεφάρων, και κατά συνέπεια στραβισμό. Επίσης άλλες συχνές οφθαλμικές διαταραχές είναι, ο υπερτελορισμός στο 78%, οι βολβοκινητικές διαταραχές στο 19,7% και οι διαταραχές του οπτικού δίσκου στο 15,9% .

Αλλά συμπτώματα συναφή με τη νόσο NF1 είναι η γνωστική δυσλειτουργία, οι σκελετικές ανωμαλίες και οι διάφορες κακοήθειες [Gutmann et al., 2017] (Peltonen and Pöyhönen 2012).

Γνωστική δυσλειτουργία

Πολλά παιδιά με NF1 αντιμετωπίζουν γνωσιακές ανεπάρκειες, μαθησιακές δυσκολίες, προβλήματα συμπεριφοράς, διάσπαση προσοχής/υπερκινητικότητα (A Lehtonen et al. 2013). Οι γνωσιακές ανεπάρκειες προκαλούν σημαντική επιβάρυνση στην ποιότητα ζωής των παιδιών με NF1 και αφορούν κυρίως την χαμηλή επίδοση σε λεκτικές και μη λεκτικές λειτουργίες (Krab et al. 2008). Επίσης, τα παιδιά με NF1 συνήθως εκδηλώνουν γενική αναπτυξιακή καθυστέρηση και προβλήματα συγκέντρωσης και ελέγχου των παρορμήσεων (Krab et al. 2008). Πρόσφατα οι Alivuotila et al. διεξήγαγαν μια μελέτη με επίκεντρο την ποιότητα της ομιλίας σε Φιλανδούς ενήλικες και παιδιά με NF1. Κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα παιδιά με NF1 αντιμετωπίζουν σοβαρές δυσκολίες στην ποιότητα της φωνής, στην ρύθμιση του τόνου, στον ρυθμό, στον τονισμό της πρότασης, στη ρινική φωνή και σε διάφορους ήχους ομιλίας.

Έχουν επίσης αναφερθεί σε ένα μεγάλο βαθμό προβλήματα κοινωνικής συμπεριφοράς και διαταραχές του αυτιστικού φάσματος σε παιδιά με NF1 (S Garg et al. 2013; van der Vaart et al. 2016). Σε ότι αφορά το δείκτη νοημοσύνης αυτών των παιδιών, από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας προκύπτει ότι η συντριπτική πλειοψηφία των παιδιών με NF1 έχουν νοημοσύνη στο φυσιολογικό εύρος, αν και ο μέσος δείκτης νοημοσύνης τους είναι συνήθως οριακά κάπως χαμηλότερος από αυτό του υπόλοιπου πληθυσμού (Roy et al. 2010; Clements-Stephens AM et al. 2008). Πολλές και εστιασμένες μελέτες στη μέτρηση ειδικά της προσοχής αυτών των παιδιών έχουν λάβει χώρα τις τελευταίες δεκαετίες. Όλες αυτές οι μελέτες καταλήγουν στο αδιαμφισβήτητο συμπέρασμα ότι η προσοχή είναι μειωμένη σε παιδιά με NF1, επισημαίνοντας μάλιστα ότι είναι ιδιαίτερα επηρεασμένο το κομμάτι της προσοχής που απαιτεί τη διατήρησή της ή την αλλαγή της εστίασης αυτής (Hyman et al. 2005; Pride et al. 2010). Αξιοσημείωτες ελλείψεις σε όλες τις πτυχές της προσοχής (διατήρηση, εναλλαγή και επιλεκτική προσοχή), έχουν αναδειχθεί σε πρόσφατη μελέτη (Payne JM et al. 2011). Σημειώνουμε, τελειώνοντας, ότι παρά το γεγονός ότι οι πειραματικές μελέτες αναφέρουν τη συχνότητα εμφάνισης ελλειμματικής προσοχής-υπερκινητικότητας (ΔΕΠΥ) σε ποσοστό 30-40 % των παιδιών με NF1 (Hyman SL et al. 2005), τελικά πολύ μικρότερο ποσοστό των παιδιών αυτών διαγιγνώσκονται με ΔΕΠΥ (Johnson H et al. 2005).

Μυοσκελετικές εκδηλώσεις

Επιπλέον, συχνά οι ασθενείς με NF1 παρουσιάζουν κλινική εικόνα από το μυοσκελετικό σύστημα και πιο συγκεκριμένα εικόνα σκολίωσης και βλάβες των μακρών οστών π.χ κύρτωση της κνήμης (Elefteriou et al. 2009). Η κύρτωση της κνήμης μπορεί να οδηγήσει σε πολλαπλά κατάγματα, η επούλωση των οποίων είναι ατελής με αποτέλεσμα την επονομαζόμενη «ψευδάρθρωση της κνήμης». Ταυτόχρονα είναι συνήθης η μειωμένη οστική πυκνότητα, το χαμηλό ανάστημα, η μακροκεφαλία και η δυσπλασία του σφηνοειδούς οστού (Kuorilehto et al. 2004; Elefteriou et al. 2009).

Όγκοι

Ένας ακόμη κίνδυνος με τον οποίο έρχονται αντιμέτωποι οι ασθενείς με NF1 είναι η ανάπτυξη καλοηθών και κακοήθων όγκων. Τα δερματικά νευροϊνώματα (ΔΝ) παρουσιάζονται στο 95% των ενηλίκων ασθενών με NF1 και αποτελούν σήμα κατατεθέν της ασθένειας (Huson 2008). Τα νευροϊνώματα είναι καλοήθεις όγκοι του ελύτρου των περιφερικών νεύρων που παρουσιάζονται σε δερματικές ή υποδόριες περιοχές. Μπορούν να αναπτυχθούν οπουδήποτε στο σώμα και δεν επηρεάζουν τη νευρική λειτουργία. Γενικά έχουν διάμετρο μικρότερη των 3 cm, είναι πολυάριθμα και δεν συνηθίζουν να εξελίσσονται σε κακοήθειες. Ο αριθμός των νευροϊνωμάτων στους ενήλικες ασθενείς μπορεί να ποικίλει από ελάχιστα έως χιλιάδες (Peltonen and Røyhönen 2012). Επιπλέον, τα νευροϊνώματα θεωρούνται ως βασικοί παράγοντες νοσηρότητας στους ενήλικες ασθενείς με NF1 (Page et al. 2006).

Σπάνια εκδηλώνονται ΔΝ πριν την ηλικία των 10 ετών, μπορεί όμως να υπάρχει κάποιο ορατό νευροϊνωμα δικτυωτού τύπου/πλεγματοειδές νευροϊνωμα (plexiform neurofibromas, ΠΝ), ακόμη και εκ γενετής, σε οποιοδήποτε σημείο του σώματος. Μπορεί επίσης οι όγκοι αυτοί να γίνουν ορατοί σε μεταγενέστερο χρονικό σημείο.

Υπάρχουν τέσσερις βασικοί τύποι νευροϊνωμάτων :

A} Τα ΔΝ: Πρόκειται για οζίδια που έχουν απαλό ροζ ή μωβ χρώμα, τα οποία δύναται να αποκτήσουν εικόνα μίσχου κατά τη διάρκεια της ανάπτυξής τους. Αναπτύσσονται συνήθως στα τέλη της εφηβείας και είναι παρόντα στη συντριπτική πλειοψηφία (> 95%) των ασθενών με NF1 (Ortonne N et al. 2018).

Ποικίλλουν σε αριθμό από ολιγοάριθμες μερικές βλάβες έως χιλιάδες. Αν και αυτοί οι όγκοι του δέρματος είναι καλοήθεις και δεν έχουν κίνδυνο κακοήθους εξαλλαγής, μπορούν να προκαλέσουν σημαντική δυσφορία και αισθητική παραμόρφωση. Οι θεραπευτικές επιλογές εξαρτώνται από τον αριθμό των βλαβών και τη θέση τους και περιλαμβάνουν την χειρουργική εκτομή και/ή αφαίρεση με λέιζερ CO₂ (Moreno JC et al. 2011).

Β} Υποδόρια νευροϊνώματα (ή περιφερικά οζώδη νευροϊνώματα, ΥΝ): Πρόκειται για σκληρές στην αφή, διακριτές, ψηλαφητές βλάβες. Επηρεάζουν τουλάχιστον το 20% των ασθενών με NF1 και συνήθως αναπτύσσονται κατά τη διάρκεια της εφηβείας [Duong TA et al. 2011]. Αυτές οι βλάβες αναπτύσσονται κατά μήκος της νευρικής θήκης. Είναι υπαίτια για αιμωδίες κατά μήκος του προσβεβλημένου νεύρου ή ακόμα και για την πρόκληση νευρολογικών ελλειμμάτων.

Γ} Τα εσωτερικά (οζώδη) νευροϊνώματα: Πρόκειται για νευροϊνώματα που δεν μπορούν να εκτιμηθούν από τη φυσική εξέταση (Sbidian E et al. 2012). Αξίζει να αναφέρουμε ότι τα νευροϊνώματα αυτά σχετίζονται με «φαινότυπο υψηλού κινδύνου», γεγονός που δικαιολογεί την στενότερη κλινική παρακολούθηση και τις προληπτικές εξετάσεις σε τακτά χρονικά διαστήματα με μαγνητική τομογραφία (MRI), προκειμένου να εντοπιστούν αλλαγές στην εμφάνιση ή την ανάπτυξη εσωτερικών όγκων με σκοπό τη έγκαιρη διάγνωση και την αποτελεσματική θεραπεία αυτών των ασθενών υψηλού κινδύνου [Mautner VF et al. 2008; Sbidian E et al. 2011]. Υπάρχει μάλιστα και σπανιότερη μορφή αυτών, με βαθύτερη εντόπιση (κυρίως παρασπονδυλική), που απαιτεί αντιμετώπιση με χειρουργική προσπέλαση λόγω έντονου πόνου, προοδευτικών νευρολογικών συμπτωμάτων και κίνδυνο μόνιμου ελλείμματος [Ferner RE et al. 20070].

Δ} Τα πλεγματοειδή νευροϊνώματα (plexiform neurofibromas, ΠΝ), είναι ευμεγέθεις όγκοι του περιφερικού νεύρου που εσωκλείουν μεγαλύτερα τμήματα των νεύρων και μπορούν να σχηματίσουν μια μεγάλη παραμορφωμένη μάζα. Προκαλούν νοσηρότητα μέσω παραμορφώσεων, πόνου, βλάβης των νευρικών λειτουργιών ή μπορεί ενδεχομένως να εξελιχθούν σε κακοήθεια (DG Evans et al. 2002; Kim et al. 2017). Πιο συγκεκριμένα σχετίζονται με την ανάπτυξη κακοήθων όγκων της νευρικής θήκης (MPNST), σε ποσοστό 8% έως 12% των ασθενών με NF1 (Evans DG et al. 2002)/. Οποιαδήποτε αλλαγή στη σοβαρότητα και τη φύση των συμπτωμάτων (π.χ. ανάπτυξη μεσοδιαστήματος, αυξημένος πόνος) θα

πρέπει να συνεπάγεται άμεση αξιολόγηση για κακοήθη εξαλλαγή. Ασθενείς με νέα νευρολογικά συμπτώματα ή σημεία (π.χ. εστιακό άκρο αδυναμία, αισθητηριακές αλλαγές) θα πρέπει να υποβληθούν σε μαγνητική τομογραφία για την αξιολόγηση του plexiform neurofibroma. Μέσω της MRI σε όλο το σώμα αποκαλύπτονται τα plexiform tumors σε πάνω από το 50% των ασθενών, ενώ περίπου 25-30% των ασθενών έχουν ορατό ή συμπτωματικό ΠΝ (Nguyen et al. 2011). Η μαγνητική τομογραφία είναι η «χρυσή» τυπική μέθοδος απεικόνισης για τη διάγνωση των ΠΝ και μπορεί να αποκαλύψει ετερογενή μοτίβα ανάπτυξης.

Επιπρόσθετα, η ανάλυση με μαγνητική τομογραφία επιτρέπει την αναγνώριση οξυδιακών βλαβών, οι οποίες διαφέρουν σημαντικά από τα γύρω πλεγματοειδή χαρακτηριστικά γνωρίσματα. Αυτά τα οζίδια τυπικά εμφανίζουν πιο γρήγορη ανάπτυξη σε σύγκριση με τα συμβατικά πλεγματοειδή στοιχεία στον ίδιο ασθενή [Meany H et al. 2013]. Επιπλέον, αυτές οι οζώδεις βλάβες είναι τυπικά άτονες στην τομογραφία εκπομπής φθοριοδεοξυ-γλυκόζης (FDG)-ποζιτρονίων (PET) σε σύγκριση με τα πλεγματοειδή νευροϊνώματα, τα οποία έχουν μόνο χαμηλού επιπέδου πρόσληψη στο FDG-PET. Ένα υποσύνολο αυτών των βλαβών περιγράφηκε πρόσφατα ως **«άτυπα νευροϊνώματα»**, τα οποία θεωρούνται πρόδρομες βλάβες για το MPNST, παρόλο που η συχνότητα κακοήθους μετασχηματισμού τους είναι άγνωστη [Beert E et al. 2011]. Οι επώδυνες βλάβες ή εκείνες που παρουσιάζουν υπερβολική ανάπτυξη ή έχουν κάποια ιδιαίτερα απεικονιστικά χαρακτηριστικά που αναδεικνύονται στη μαγνητική τομογραφία (MRI), θα πρέπει να υποβάλλονται σε διαγνωστική βιοψία ή χειρουργική εκτομή. Οι «άτυποι» νευροϊνωματώδεις όγκοι και τα χαμηλού βαθμού MPNST απαιτούν συνήθως λιγότερο επιθετική χειρουργική επέμβαση σε σύγκριση με το MPNST υψηλού βαθμού, η οποία απαιτεί ευρεία εκτομή με αρνητικά χειρουργικά περιθώρια για πιθανή ίαση [Widemann B et al. 2015]. Ένας τυποποιημένος παθολογικός ορισμός των όγκων του νευρικού ελύτρου συμπεριλαμβανομένων των άτυπων ή απροσδιόριστων νευρικών όγκων, χαμηλού και υψηλού βαθμού MPNST θα βοηθούσε σημαντικά τους γιατρούς στη λήψη τεκμηριωμένων αποφάσεων θεραπείας για αυτές τις βλάβες.

Η NF1 συσχετίζεται με καλοήθη νευροϊνώματα αλλά και με αρκετά είδη κακοηθειών. Πιο συγκεκριμένα, το γλοίωμα οπτικού νεύρου (R Listernick et al. 1997) και οι κακοήθεις όγκοι του περιφερικού νεύρου (MPNSTs) (DG Evans et al.

2002) αποτελούν συχνούς κακοήθεις όγκους σε ασθενείς με NF1. Άλλοι συχνοί όγκοι του Κ.Ν.Σ είναι τα αστροκυτώματα, τα μηνιγγιώματα και τα νευροϊνোসαρκώματα. Επιπλέον τα αμαρτώματα στην παρεγκεφαλίδα και τα βασικά γάγγλια απαντώνται συχνά στην παιδική ηλικία και ευθύνονται για την εμφάνιση και μαθησιακών δυσκολιών στα παιδιά αυτά.

Καρδιαγγειακές εκδηλώσεις

Αξίζει να αναφερθούμε στις καρδιαγγειακές εκδηλώσεις που προκαλεί η NF1. Και αυτό διότι η στένωση των νεφρικών αρτηριών και των καρωτίδων που προκαλεί η νόσος αποτελεί τη δεύτερη αιτία θανάτου από NF1 (Alyssa et al.2019). Άλλες καρδιαγγειακές εκδηλώσεις της νόσου είναι η στένωση της πνευμονικής αρτηρίας και αορτής και η μυοκαρδιοπάθεια λόγω διήθησης από όγκους π.χ νευροϊνώματα. Συχνά απαιτείται διεπιστημονική φροντίδα υγείας εξαιτίας των ποικίλων κλινικών ιδιαιτεροτήτων που σχετίζονται με την NF1. Χρειάζεται τόσο η παρακολούθηση όσο και η συνεργασία πολλών ειδικοτήτων προκειμένου να ελεγχθεί και πιθανά να θεραπευθεί, σε έναν ικανοποιητικό βαθμό, ο ασθενής με NF1. Επιπρόσθετα, η NF1 εκδηλώνει μία σημαντική φαινοτυπική διακύμανση ως προς τη συμπτωματολογία και την κλινική εικόνα. Ο βαθμός σοβαρότητας σε κάθε ασθενή είναι απρόβλεπτος, ακόμη και σε όσους έχουν ταυτόσημες γενετικές μεταλλάξεις NF1 (D Viskochil 2002). Ένα άτομο με ήπια κλινικά συμπτώματα μπορεί να αποκτήσει έναν απόγονο με πιο σοβαρό φαινότυπο ή και το αντίστροφο (Riccardi and Lewis 1988).

1.1.2 Διάγνωση

Η διάγνωση της νευροϊνωμάτωσης συνήθως βασίζεται στα κλινικά ευρήματα. Τα διαγνωστικά κριτήρια για την NF1 κατοχυρώθηκαν στο NIH 1987 Consensus Conference (“The National Institutes of Health (NIH) Consensus Development Program: Neurofibromatosis” 1987). Για την κλινική διάγνωση της NF1 απαιτούνται τουλάχιστον δύο διαγνωστικά κριτήρια από αυτά που είναι καταχωρημένα στον Πίνακα 2. Τα πιο σημαντικά εξ αυτών είναι οι cafe-au-lait κηλίδες, οι εφηλίδες της μασχालιαίας και βουβωνικής χώρας και τα νευροϊνώματα που είναι ορατά στο δέρμα. Τα διαγνωστικά κριτήρια φαίνονται να είναι πιο συγκεκριμένα και πιο εύκολο να αναγνωριστούν σε ενήλικες με NF1

(Gutmann et al. 1997; Lan Kluwe et al. 2004). Συχνά όμως οι ιατροί αντιμετωπίζουν περιπτώσεις όπου είναι παρόντα υπάρχουν κάποια από τα κλινικά κριτήρια της NF1, όχι όμως αρκετός αριθμός αυτών για να τεθεί η κλινική διάγνωση. Ιδιαίτερα στα μικρά παιδιά η διάγνωση είναι αρκετές φορές δύσκολη, καθώς περίπου οι μισές σποραδικές περιπτώσεις της NF1 στην ηλικία του ενός έτους δεν πληρούν τα διαγνωστικά κριτήρια NIH (DeBella, Szudek, and Friedman 2000).

Η χρήση αυτών των διαγνωστικών κριτηρίων για την NF1 έχει επικυρωθεί για τα παιδιά. Οι DeBella K et al. 2000, μελέτησαν μία μεγάλη ομάδα 1402 ασθενών ηλικίας κάτω των 21 ετών που διαγνώστηκαν με NF1. Μετά από εκτενή αξιολόγηση σε κλινική νευροϊνωμάτωσης, το 97% αυτών των ασθενών πληρούσε 2 ή περισσότερα κριτήρια μέχρι την ηλικία των 8 ετών και όλοι οι ασθενείς πληρούσαν κριτήρια μέχρι την ηλικία των 20 ετών. Ωστόσο, το 30% των βρεφών που διαγνώστηκε με NF1 πριν από την ηλικία του 1 έτους, παρουσιάζονταν με ένα μόνο κριτήριο επιπλέον του συγγενή α΄/πρώτου βαθμού και συνολικά το 46% των σποραδικών περιπτώσεων δεν πληρούσε κριτήρια στην ηλικία του 1 έτους, υποδηλώνοντας με την παρατήρηση αυτή, ότι η διάγνωση σε βρέφη για τα οποία δεν υπάρχει οικογενειακό ιστορικό είναι αρκετά δύσκολη μέχρι το πρώτο έτος της ζωής. Ενενήντα εννέα τοις εκατό των ασθενών με NF1 παρουσιάστηκαν με 6 ή περισσότερες café-au-lait κηλίδες διαμέτρου 5 mm ή μεγαλύτερες, μέχρι την ηλικία του 1 έτους. Εφηλίδες στην βουβωνική και/ή μασχαλιαία χώρα, παρατηρήθηκαν στο 90% των ασθενών μέχρι την ηλικία των 7 ετών και τα οζίδια Lisch παρατηρήθηκε στην εξέταση με σχισμοειδή λυχνία σε περισσότερο από το 70% των προσβεβλημένων παιδιών μέχρι την ηλικία των 10 ετών. Αντίθετα με τα ανωτέρω, νευροϊνώματα παρατηρήθηκαν μόνο στο 48% των παιδιών μέχρι τα 10 έτη και μέχρι το 84% των ασθενών μέχρι την ηλικία των 20 ετών. Οι οστικές βλάβες που συνήθως παρατηρούνται εντός του πρώτου χρόνου ζωής και όντως παρατηρήθηκαν στο 14% των ασθενών. Συμπτωματικό γλοιώμα της οπτικής οδού, παρατηρήθηκε στο 1% των ασθενών στην ηλικία του 1 έτους και στο 4% στην ηλικία των 3 ετών. Εξαιρετικές ανασκοπήσεις των κλινικών χαρακτηριστικών του NF1, συμπεριλαμβανομένων τόσο των δερματικών όσο και εξωδερμικές εκδηλώσεις, έχουν δημοσιευθεί πρόσφατα, από τους Boyd KP et al. 2009 και Williams VC et al. 2009.

Δεδομένου του γεγονότος ότι η NF1 αποτελεί μια πολυοργανική ασθένεια με συχνές επιπλοκές από διάφορα οργανικά συστήματα, η έγκυρη και έγκαιρη διάγνωση είναι ζωτικής σημασίας. Επί του παρόντος, συνιστάται ο γενετικός έλεγχος για τη σίγουρη διάγνωση της NF1 ιδίως σε παιδιά που πληρούν μόνο τα διαγνωστικά χαρακτηριστικά χρωστικής ουσίας (D Evans et al. 2017). Το ίδιο ισχύει και για τους ενήλικες με άτυπη κλινική εικόνα (Peltonen and Røyhönen 2012). Βέβαια, αυτό στην πράξη εφαρμόζεται ιδίως για τον προγεννητικό έλεγχο ζευγαριών που έχουν ήδη ένα παιδί με NF1 και επιθυμούν να προχωρήσουν σε δεύτερη εγκυμοσύνη.

Πίνακας 1. Διαγνωστικά κριτήρια NF1

Έξι ή περισσότερες κηλίδες cafe au lait με διάμετρο τουλάχιστον 5 mm (εάν το άτομο είναι στην προεφηβική ηλικία) ή με διάμετρο 15 mm (εάν το άτομο είναι στη μετεφηβική ηλικία)
Δύο ή περισσότερα νευρινώματα οποιουδήποτε τύπου ή ένα πλεγματοειδές νευρίνωμα
Εφηλίδες μασχαλιαίας ή βουβωνικής χώρας
Γλοιώμα οπτικού νεύρου
Δύο ή περισσότερα οζίδια του Lisch
Χαρακτηριστικό οστικό φαινότυπο (δυσπλασία του σφηνοειδούς και λέπτυνση του φλοιού των μακρών οστών με ή χωρίς ψευδάρθρωση)
Έναν συγγενή πρώτου βαθμού με νευροϊνωμάτωση

Πίνακας 2. Δερματικές εκδηλώσεις NF1

Κοινές	Σπάνιες
Cafe-au-lait κηλίδες	Νεανικό ξανθοκοκκίωμα
Εφηλίδες μασχαλιαίας ή βουβωνικής χώρας	Γλοιώματα
Νευροϊνώματα(δερματικά ή πλεγματοειδή)	Μελανώματα
Γενικευμένη υπερμελάγχρωση	Μπλε/κόκκινες κηλίδες
	Ψευδοατροφικές κηλίδες
	Σπίλος αναιμικός

Πίνακας 3. Σύνδρομα που σχετίζονται με τις CALMs

Συσχέτιση	Σύνδρομο	
Ισχυρή	NF 1	
	NF2	
	Legius σύνδρομο	
	Leopard σύνδρομο	
	Ring σύνδρομο	
	Cowden σύνδρομο	
	Banayan-Riley-Ruvalcalba σύνδρομο	
	McCune-Albright syndrome σύνδρομο	
	Ασθενής	Ataxia-telangiectasia
Bloom syndrome σύνδρομο		
Noonan syndrome σύνδρομο		
Russell-Silver σύνδρομο		
Fanconi anemia		
(MEN) σύνδρομο		
Turner σύνδρομο		
Johanson-Blizzard Σύνδρομο		
Nijmegen breakage Σύνδρομο		
Kabuki σύνδρομο		
Οζώδης σκλήρυνση		

Πίνακας 4. Διαφορική διάγνωση των CALMs

Εφηλίδες
Ηλιακές φακές
Συγγενής μελανοκυτταρικός σπίλος
Σπίλος του Becker
Μεταφλεγμονώδης υπέρχρωση
Μωσαϊκισμός χρωματικός
Μαστοκύττωμα/κνιδωτική υπερμελάχρωση
Speckled lentiginous σπίλος

1.1.2.1 Τμηματική νευροϊνωμάτωση

Ο όρος τμηματική νευροϊνωμάτωση χρησιμοποιείται για να περιγράψει τους ασθενείς που παρουσιάζουν μια μετάλλαξη της NF1 μόνο σε ένα μικρό αριθμό κυττάρων. Γι' αυτό τα χαρακτηριστικά της ασθένειας περιορίζονται μόνο στην προσβεβλημένη περιοχή, η οποία μπορεί να είναι μόνο μια στενή λωρίδα/περιοχή σώματος ή έως και το μισό σώμα (Ruggieri and Huson 2001). Η τμηματική νευροϊνωμάτωση προκαλείται από μια μεταζυγωματική μετάλλαξη του γονιδίου NF1 κατά την εμβρυική ανάπτυξη (Ruggieri and Huson 2001; Robert Listernick, Mancini, and Charrow 2003). Το πιο συνηθισμένο πρωταρχικό εύρημα σε αυτή την κατηγορία ασθενών είναι η μονόπλευρη μελαγχρωματική διαταραχή και οι περισσότεροι ασθενείς ζητούν ιατρική γνωμάτευση εξαιτίας της ασυνήθιστης εικόνας του δέρματός τους (Huson 2008; Lara-Corrales et al. 2017). Στους ασθενείς με τμηματική νευροϊνωμάτωση είναι λιγότερο πιθανό να προκύψει κάποια σοβαρή ασθένεια κι είναι χαμηλότερος ο κίνδυνος κληρονομικότητας της NF1 στα παιδιά τους (Ruggieri and Huson 2001). Με αυτό τον τρόπο εξηγείται κι η απουσία ανιχνεύσιμης μετάλλαξης NF1 στο αίμα στις περιπτώσεις τμηματικής νευροϊνωμάτωσης.

1.1.2.2 Σπονδυλική νευροϊνωμάτωση

Η σπονδυλική νευροϊνωμάτωση είναι μια σπάνια μορφή της NF1 που σαν κύριο χαρακτηριστικό έχει τα πολλαπλά νευροϊνώματα στον νωτιαίο μυελό. Αυτή η σοβαρή υποκατηγορία της NF1 παρουσιάζει αμφίπλευρα νευροϊνώματα σε όλες τις σπονδυλικές ρίζες. Οι ασθενείς έχουν κάποια χρωματικά γνωρίσματα της NF1, απουσιάζουν όμως τα δερματικά νευροϊνώματα (Huson 2008; L Messiaen et al. 2003). Έχουν αναφερθεί μόλις περίπου 100 περιπτώσεις αυτού του τύπου νευροϊνωμάτωσης, είτε σποραδικές είτε οικογενής (Poyhonen et al. 1997). Υπάρχει η εικασία ότι οι ασθενείς με τη σοβαρή οικογενή υποκατηγορία συνήθως φέρουν μια παρανοηματική (missense) μετάλλαξη ή μετάλλαξη σε θέση αποκοπής (splicing) της NF1 (L Kluwe et al. 2003; L Messiaen et al. 2003).

1.1.3 Επιδημιολογικά χαρακτηριστικά

1.1.3.1 Επίπτωση και επιπολασμός

Δεν υπάρχει γνωστός πληθυσμός όπου να μη συναντάται η νευροϊνωμάτωση (Friedman 1999). Από το 1950, έχουν διεξαχθεί πολλές μελέτες με διάφορες μεθόδους και σε διάφορες ηπείρους, αναφορικά με την παρουσία και τη συχνότητα της νευροϊνωμάτωσης. Η συχνότητα της NF1 ποικίλλει από μελέτη σε μελέτη, ενδεχομένως λόγω των διαφορών στην εξακρίβωση και των δύο διαφορετικών ομάδων ασθενών: όσων ανήκουν στο γενικό πληθυσμό και των νοσηλευόμενων. Κάποιες προηγούμενες μελέτες με βάση τον πληθυσμό αφορούν μόνο συγκεκριμένες περιοχές: το Gothenborg στη Σουηδία (Samuelsson and Axelsson 1981), τη νοτιοανατολική Ουαλία (Huson et al. 1989), το Dunedin στη Νέα Ζηλανδία (Fuller, Cox, and Gardner 1989), τη βορειοανατολική Ιταλία (Clementi et al. 1990) και τη Βόρεια Φινλανδία (Poyhonen, Kytola, and Leisti 2000).

Η ομάδα των Crowe (Crowe 1956) ήταν η πρώτη που υπολόγισε τη συχνότητα εμφάνισης της NF1. Η μελέτη βασίστηκε στον έλεγχο των εισαγωγών σε τοπικά νοσοκομεία και κρατικά ψυχιατρικά ιδρύματα στο Μίσιγκαν των ΗΠΑ και κατέληξε σε μια συχνότητα εμφάνισης της νόσου $1/2,500 - 1/3,300$. Ο Sergeyeu (Sergeyeu 1975) ανακάλυψε μικρότερη συχνότητα εμφάνισης της ασθένειας μέσω ιατρικών εξετάσεων σε 16χρονους Ρώσους πριν καταταγούν στο στρατό. Η μελέτη κατέληξε σε μια προσέγγιση επίπτωσης $1/7,812$. Οι συγκεκριμένοι Ρώσοι 16χρονοι χρησιμοποιήθηκαν και σε άλλες μελέτες (Fazii et al. 1998; Garty, Laor, and Danon 1994; Ingordo et al. 1995). Η μεγαλύτερη καταγεγραμμένη συχνότητα εμφάνισης, από τους Garty et al., έφτασε στο $1/960$ (Garty, Laor, and Danon 1994). Οι αριθμοί αυτοί προήλθαν από την εξέταση 17χρονων στο Ισραήλ πριν καταταγούν στο στρατό. Οι Lammert et al. μελέτησαν τη συχνότητα εμφάνισης της νευροϊνωμάτωσης στη Γερμανία μέσω εξειδικευμένου ελέγχου για NF1 κατά τη διάρκεια τακτικών ιατρικών εξετάσεων σε παιδιά στο στάδιο εγγραφής στο δημοτικό σχολείο (Lammert et al. 2005). Διαπίστωσαν ότι στα 6χρονα παιδιά η επίπτωση ήταν $1/2,996$.

Πολλές μελέτες αξιοποίησαν τις έρευνες επάνω σε ιατρικά αρχεία, επιστολές σε ιατρικά ιδρύματα και γιατρούς, καθώς και τις εξετάσεις προσβεβλημένων ασθενών και των συγγενών τους (Huson et al. 1989; Poyhonen, Kytola, and Leisti

2000; Samuelsson and Axelsson 1981). Διεξήχθησαν επίσης έρευνες στα ιατρικά αρχεία τμημάτων γενετικής ή σε μητρώα γενετικής (Clementi et al. 1990; D. G. Evans et al. 2010; McKeever et al. 2008). Η συχνότητα εμφάνισης της NF1 αναφέρεται ως υψηλότερη σε μικρά παιδιά από ότι σε ενήλικες (Clementi et al. 1990; Huson et al. 1989). Αυτό πιθανόν να οφείλεται στον πρώιμο θάνατο ορισμένων ασθενών με νευροϊνωμάτωση.

Η επίπτωση, της νευροϊνωμάτωσης, κατά τη γέννηση δεν έχει αναφερθεί σε πολλές μελέτες. Η ομάδα των Huson et al. τακτοποίησε 69 οικογένειες με 135 συνολικά νοσούντες στη νοτιοανατολική Ουαλία (Huson et al. 1989). Σε αυτές τις οικογένειες, η διεισδυτικότητα έφτανε το 100% στην ηλικία των 5 ετών. Με βάση αυτή τη μελέτη, διαφαίνεται μια συχνότητα εμφάνισης 1/2,558. Μια γενετική προσέγγιση βασισμένη σε αρχειακό υλικό χρησιμοποιήθηκε για την καταγραφή ασθενών στην περιοχή του Μάντσεστερ της βορειοδυτικής Αγγλίας (D. G. Evans et al. 2010). Η επίπτωση, της νευροϊνωμάτωσης, κατά τη γέννηση σε αυτή τη μελέτη ήταν 1/2,699 με 979 νοσούντες από 539 οικογένειες.

Οι Lammert et al. θεώρησαν ότι τα περιστατικά νευροϊνωμάτωσης κατά τη γέννηση είχαν την ίδια συχνότητα με αυτά στην ηλικία των 6 και κατέληξαν σε μια εκτίμηση συχνότητας 1/2,600 - 1/3,000 (Lammert et al. 2005). Έχει ήδη αξιολογηθεί η συχνότητα περιστατικών NF1 στη βόρεια Φινλανδία από τους Royhonen et al., με μέγιστο αριθμό περιστατικών 1/2,703 (Royhonen, Kytola, and Leisti 2000). Αυτή η μελέτη βασίστηκε σε 197 νοσούντες με NF1 από 119 οικογένειες που ταυτοποιήθηκαν μέσω νοσοκομειακών αρχείων, όπου ακολούθησε κλινική αξιολόγηση κατά τα έτη 1989-1996.

Η παραδοσιακά αποδεκτή αναλογία εκ νέου περιπτώσεων νευροϊνωμάτωσης είναι στο 50%. Στη μελέτη του/της Royhonen, οι 96 από τις 197 (49%) ταυτοποιημένες περιπτώσεις NF1 θεωρήθηκε ότι αποτελούν ενδεχομένως νέες μεταλλάξεις του γονιδίου της νόσου (Royhonen, Kytola, and Leisti 2000). Σε αρκετές μελέτες έχουν δημοσιευθεί παρόμοια αποτελέσματα με θετικό οικογενειακό ιστορικό στις μισές περίπου περιπτώσεις (Clementi et al. 1990; D. G. Evans et al. 2010; Samuelsson and Axelsson 1981). Παρόλα αυτά, η εκτίμηση των περιστατικών νέων μεταλλάξεων υπόκειται σε μεροληπτικό σφάλμα επιβεβαίωσης. Η τόσο μεγάλη ηλικία διάγνωσης στις νέες περιπτώσεις νευροϊνωμάτωσης σημαίνει ότι μπορεί να έχει γίνει λανθασμένος υπολογισμός

στα συνολικά ποσοστά. Οι Evans et al. ανέφεραν ότι η διάμεση ηλικία διάγνωσης μπορεί να καθυστερήσει έως και 4 χρόνια στις νέες περιπτώσεις συγκριτικά με τις οικογενείς περιπτώσεις (D. G. Evans et al. 2010).

Οι περισσότερες από αυτές τις μελέτες καθώς και οι μέθοδοι καταγραφής μπορεί να έχουν παραλείψει τους ασθενείς με ήπια νευροϊνωμάτωση, ιδίως τα παιδιά με νέα μετάλλαξη ή χωρίς σοβαρές επιπλοκές ασθένειας. Επιπλέον, η νευροϊνωμάτωση σπανίως διαγιγνώσκεται κατά τη γέννηση καθώς τα περισσότερα συμπτώματα αναπτύσσονται αργότερα, καθιστώντας έτσι δύσκολο τον υπολογισμό των περιστατικών κατά τη γέννηση. Επιπρόσθετα, οι Royhonen et al. ανέφεραν ότι μειώθηκε η μέση ηλικία διάγνωσης ασθενών με NF1, από τα 20 έτη που ήταν τη δεκαετία του 1960, στα 6 περίπου έτη τη δεκαετία του 1980 (Royhonen, Kytola, and Leisti 2000). Αυτό εξηγείται από την αυξανόμενη ενημέρωση για τη νόσο και την καλύτερη κατανόηση των διαγνωστικών κριτηρίων. Παρομοίως, η ευρύτερη ενημέρωση σχετικά με τη νευροϊνωμάτωση οδηγεί και σε πιο πρόωμη διάγνωση.

1.1.3.2 Θνησιμότητα

Οι πληροφορίες σχετικά με τη θνησιμότητα της νευροϊνωμάτωσης είναι περιορισμένες, όμως σε όλες τις δημοσιευμένες μελέτες εντοπίστηκε υψηλό ποσοστό θνησιμότητας σχετιζόμενης με καρκίνο. Άλλες προγενέστερες μελέτες αναφορικά με τη θνησιμότητα στους ασθενείς με νευροϊνωμάτωση είναι μοιρασμένες ανάμεσα σε μελέτες που ανατρέχουν στα πιστοποιητικά θανάτου και ψάχνουν για διάγνωση με NF1, και σε μελέτες που χρησιμοποιούν τα στατιστικά των ασθενών.

Με σκοπό την εύρεση των ασθενών που είχαν νευροϊνωμάτωση, έχουν γίνει τουλάχιστον τρεις μελέτες θνησιμότητας με τη χρήση των πιστοποιητικών θανάτου. Ο Imaizumi (Imaizumi 1995) μελέτησε τα ποσοστά θνησιμότητας από νευροϊνωμάτωση μέσω της ανάλυσης Ιαπωνικών δημογραφικών στατιστικών στοιχείων κατά την περίοδο 1968-1992. Χρησιμοποιήθηκαν μόνο οι περιπτώσεις όπου ως αιτία θανάτου είχε καταγραφεί η νευροϊνωμάτωση και δεν υπήρχε διαχωρισμός ανάμεσα σε νοσούντες με NF1 και NF2.

Οι Rasmussen et al. ανέλυσαν τη θνησιμότητα από NF1 μέσω πιστοποιητικών θανάτου στις ΗΠΑ κατά την περίοδο 1983-1997 (Rasmussen, Yang, and Friedman

2001). Ανάμεσα σε 32,722,122 θανάτους, ταυτοποίησαν 3,770 περιπτώσεις που θεωρούνταν σχετιζόμενες με την NF1 . Αυτό μεταφράζεται σε 1 προς 8,679 θανάτους και, θεωρώντας ότι τα ποσοστά και η συχνότητα θνησιμότητας παραμένουν αμετάβλητα, οι ασθενείς με NF1 φαίνεται πως δεν έχουν καταγραφεί πλήρως σε αυτή τη μελέτη καθώς δεν έχει καταγραφεί η νευροϊνωμάτωση σε όλα τα πιστοποιητικά θανάτου όσων νοσούσαν με NF1. Όσοι νοσούσαν με NF1 ήταν 1,2 φορές πιο πιθανό να έχουν καταγεγραμμένη στο πιστοποιητικό θανάτου κάποια νεοπλασματική κακοήθεια. Η διάμεση ηλικία θανάτου σε αυτή τη μελέτη είναι 15.7 έτη χαμηλότερη από ότι στο γενικό πληθυσμό.

Η τρίτη μελέτη χρησιμοποίησε Ιταλικά πιστοποιητικά θανάτου της περιόδου 1995-2006 (Masocco et al. 2011). Από τα πιστοποιητικά θανάτου προέκυψαν 632 θάνατοι με διάγνωση NF1 και διάμεση ηλικία θανάτου περίπου 20 χρόνια χαμηλότερη από ότι στο γενικό πληθυσμό. Συμφωνώντας με προηγούμενα ευρήματα, αναφέρθηκε υψηλός αριθμός θανάτων σχετιζόμενων με κακοήθεις νεοπλασίες στον εγκέφαλο καθώς και στο συνδεδετικό ιστό.

Αυτού του είδους οι μελέτες είναι άμεσα εξαρτημένες από τη λεπτομερώς δηλωμένη διάγνωση NF1 στα πιστοποιητικά θανάτου και γι' αυτό υπάρχει στατιστική πιθανότητα λάθους στην καταγραφή μόνο των γνωστών περιπτώσεων σχετικών με NF1, όπως κακοήθεις νεοπλασίες του συνδεδετικού ιστού, των μαλακών μορίων και του εγκεφάλου. Παρομοίως, υπάρχει το ενδεχόμενο στις μελέτες αυτές να ανιχνεύονται μόνο οι σοβαρές περιπτώσεις NF1.

Οι Sorensen et al. (Sørensen, Mulvihill, and Nielsen 2009) χρησιμοποίησαν μια μελέτη κοορτής από τη Δανία που αφορούσε 212 νοσούντες με NF1. Στη μελέτη κοορτής, που συνεχίστηκε για πάνω από 42 έτη, αναλύθηκε η θνησιμότητα, η επιβίωση και οι περιπτώσεις καρκίνου (Sorensen et al., 1986). Στους 113 θανόντες, τα πιο κοινά αίτια θανάτου ήταν παρόμοια με αυτά του γενικού πληθυσμού: καρκίνος, έμφραγμα του μυοκαρδίου, εγκεφαλοαγγειακές ασθένειες και πνευμονία, αποτελώντας το 77% των συνολικών θανάτων. Οι γυναίκες είχαν τα χαμηλότερα ποσοστά επιβίωσης σε αυτή τη μελέτη.

Μια σουηδική μελέτη κοορτής 70 ενηλίκων νοσούντων με NF1 (Samuelsson and Axelsson 1981) από το Göteborg της Σουηδίας συνεχίστηκε για 12 έτη (Zöller et

al. 1995). Η διάμεση ηλικία θανάτου ήταν τα 61,6 έτη, που ήταν χαμηλότερη κατά 15 χρόνια από τον γενικό πληθυσμό.

Μια μελέτη στη βορειοδυτική Αγγλία με βάση τον πληθυσμό συμπεριέλαβε 130 θανάτους σε μία μελέτη κοορτής 1,186 νοσούντων της NF1 (D Gareth R Evans et al. 2011). Η πιο κοινή αιτία θανάτου ήταν ο κακοήθης όγκος περιφερικού νεύρου (Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumor, MPNS) με ένα ποσοστό θανάτων 26% να οφείλονται σε αυτή τη νόσο. Το MPNST αναφέρθηκε ως αιτία θανάτου πολύ παραπάνω από το αναμενόμενο, και στις γυναίκες που έπασχαν από NF1 αλλά και στους άντρες. Ο διάμεσος χρόνος επιβίωσης όσων νοσούσαν με NF1 ήταν τα 71,5 έτη, που είναι κατά 8 χρόνια χαμηλότερη από τον γενικό πληθυσμό (D Gareth R Evans et al. 2011).

Μια γαλλική μελέτη κοορτής 1,226 ατόμων με NF1 και μέση ηλικία παρακολούθησης τα 6,8 χρόνια, κατέγραψε 67 θανάτους. Παρατηρήθηκε αυξημένη θνησιμότητα στις ομάδες ασθενών κάτω των 40 χρόνων, όπου το MPNST αποτελούσε την πιο κοινή αιτία θανάτου (60%) (Duong et al. 2011).

1.2 Σύνδρομα με φαινοτυπική επικάλυψη με την NF1

1.2.1 Νευροϊνωμάτωση τύπου 2

Η κλινική και γενετική διαφοροποίηση ανάμεσα στη νευροϊνωμάτωση τύπου 2 (NF2) και την NF1 επετεύχθη μόνο όταν αναγνωρίστηκαν πλήρως οι διαφορές στην κλινική αλλά και τη γονιδιακή εικόνα αυτών των διαφορετικών παθήσεων. Πριν το National Institutes of Health Consensus Conference το 1987 ("The National Institutes of Health (NIH) Consensus Development Program: Neurofibromatosis" 1987), πολλές μελέτες περιλάμβαναν ασθενείς και με NF1 και με NF2. Η NF2 είναι επίσης μια κατά κύριο λόγο κληρονομική ασθένεια, που προκαλείται όμως από μεταλλάξεις στο γονίδιο NF2, το γονίδιο της μερλίνης, που εδράζεται στο χρωμόσωμα 22 και διεγνώσθει το 1922 (Seizinger et al. 1987; Rouleau et al. 1993). Η μερλίνη έχει παρόμοια δράση με τη νευροϊνωμίνη, αναστέλλει δηλαδή τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Η απώλεια της μερλίνης οδηγεί στην ενεργοποίηση του κυτταρικών μονοπατιών σήματος μέσω διαμόρφωσης του συστήματος Ras, που επηρεάζει στόχους που έχουν επίσης εντοπιστεί στην NF1 (18, e30). Σποραδικά σβαννώματα και μηνιγγιώματα προκύπτουν επίσης μέσω αλλαγών σήματος σε αυτές τις οδούς (Petrilli AM et

al.2016; Brastianos PK et al. 2013). Οι μεταλλάξεις NF2 μπορούν να βρεθούν στο αίμα του περίπου το 91% όλων των ασθενών με θετικό οικογενειακό ιστορικό (Evans DGR et al. 2007). Σε ασθενείς με de novo μεταλλάξεις, η ανάλυση μετάλλαξης αποδίδει λιγότερο σαφή αποτελέσματα (59%) (Kluwe L et al. 2003; Love S et al. 2015). Γενετικά μωσαϊκά βρίσκονται σε 30–60% όλων των de novo περιπτώσεων και, κατά συνέπεια, η μετάλλαξη ανευρίσκεται σαφώς μόνο σε κυτταρολογική εξέταση/βιοψία από ιστό όγκου. NF2 Τα γενετικά μωσαϊκά μπορούν επίσης να περάσουν στους απογόνους των προσβεβλημένων ασθενών, με αυξημένο κίνδυνο 8-12% (Kresak JL et al. 2016). Το ρυθμιστικό πλαίσιο για την προγεννητική διάγνωση στην NF2 είναι το ίδιο με την NF1. Τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα της NF2 περιλαμβάνουν αμφίπλευρα αιθουσαία σβαννώματα και ενδοκρανιακά μηνιγγιώματα (D. G.R. Evans et al. 1992; Mautner et al. 1996; Parry et al. 1994). Αποτέλεσμα είναι η προοδευτική απώλεια της ακοής και η αιθουσαία δυσλειτουργία (ίλιγγος και αστάθεια της βάδισης). Η NF2 είναι πιο σπάνια από την NF1. Περίπου το 47% των ασθενών με NF2 πάσχουν από περιφερική νευροπάθεια (Sperfeld AD et al. 2002). Από τους οφθαλμούς, ο υποκάψιος καταρράκτης εμφανίζεται στο 80% σχεδόν των ασθενών με NF2 (McLaughlin ME et al. 2007), ενώ συχνές άλλες οφθαλμικές επιπλοκές είναι οι επι-αμφιβληστροειδικές μεμβράνες, το αμφιβληστροειδικό αμάρτωμα, το γλοίωμα του οπτικού νεύρου, το μηνιγγίωμα, και το ενδοφθάλμιο σβάννωμα. Η παράλυση του προσωπικού νεύρου θέτει τον κερατοειδή σε υψηλό κίνδυνο εμφάνισης έλκους.

Τα καταγεγραμμένα περιστατικά της NF2 ποικίλλουν ανάμεσα σε 1/33,000 (D. G. Evans et al. 1992) και 1/87,410 (Antinheimo et al. 2000). Οι μισές περίπου από τις αναφερόμενες περιπτώσεις στη βιβλιογραφία, αποτελούν de novo μεταλλάξεις (Kresak JL et al. 2016).

Η θνησιμότητα στους νοσούντες με NF2 έχει διερευνηθεί σε κάποιες μελέτες (Parry et al. 1994; D. G.R. Evans et al. 1992; Baser et al. 2002). Η ομάδα των Evans et al. ανέφερε ως διάμεση ηλικία θανάτου τα 36 έτη, ενώ 3 από τους 40 θανάτους προέκυψαν από επιπλοκές της νευροϊνωμάτωσης (D. G.R. Evans et al. 1992). Η ηλικία διάγνωσης αποτέλεσε το σημαντικότερο στοιχείο πρόβλεψης όσον αφορά τον κίνδυνο θνησιμότητας στους ασθενείς με NF2 (Baser et al. 2002).+

1.2.2 Σβαννωμάτωση (Schwannomatosis)

Η σβαννωμάτωση είναι μια γενετική ασθένεια που χαρακτηρίζεται από πολλαπλά σβαννώματα. Θεωρείται η τρίτη μορφή και πιο σπάνια μορφή νευροϊνωμάτωσης. Από το 2005 περίπου και μετά η σβαννωμάτωση θεωρήθηκε ως ξεχωριστή οντότητα. Έχει παρόμοια κλινική εκδήλωση με την NF2, χωρίς όμως να πληρούνται τα διαγνωστικά κριτήρια αυτής. Αναφέρεται να είναι παρούσα σε περίπου 1 στις 69.000 γεννήσεις (Evans DG et al. 2018), αλλά ο επιπολασμός της μπορεί να είναι πολύ υψηλότερος, καθώς πολλές περιπτώσεις είναι ολιγοσυμπτωματικές. Ο χρόνιος πόνος είναι γενικά το προεξάρχων σύμπτωμα. Τα σβαννώματα είναι καλοήθεις όγκοι των νευρικών θηκών που συνήθως εμφανίζονται μεμονωμένα στον γενικό πληθυσμό. Στην περίπτωση της NF2, συνήθως εμφανίζονται πολλαπλά σβαννώματα σε ένα άτομο, όμως αυτό που ξεχωρίζει τη σβαννωμάτωση από την NF2 είναι η έλλειψη αιθουσαίων σβαννωμάτων (MacCollin et al. 2005). Σβαννώματα της σπονδυλικής στήλης παρατηρούνται σχεδόν στα δύο τρίτα των ασθενών (Merker VL et al. 2012). Μηνιγγιώματα και μονόπλευρα αιθουσαία σβαννώματα μπορεί να παρατηρηθούν επιπρόσθετα (Smith MJ et al. 2012; Christiaans I et al. 2011). Υπάρχει εκτεταμένη συζήτηση με αρκετές διχογνωμίες σχετικά με το εάν οι κακοήθειες είναι πιο συχνές σε ασθενείς με σβαννωμάτωση (e63). Οι γενετικές μελέτες υποδηλώνουν ότι οι μεταλλάξεις εντοπίζονται στο 86% των οικογενειών και στο 40% των μεμονωμένων ατόμων που νοσούν από σβαννωμάτωση (Hildegard Kehrer-Sawatzki et al. 2017; Plotkin et al. 2013).

1.2.3 Constitutional mismatch repair deficiency syndrome (CMMRD)

Τα άτομα με CMMRD μπορεί να έχουν φαινότυπο σχεδόν ίδιο με της NF1, και μπορεί τα άτομα που νοσούν να πληρούν τα διαγνωστικά κριτήρια NIH για NF1. Τα άτομα αυτά όμως κινδυνεύουν από ένα άλλο φάσμα κακοηθειών (Tabori et al. 2017). Σε αρκετές αναφορές, οι CALMs που παρατηρούνται σε παιδιά με CMMRD περιγράφονται με «οξύαιχμα άκρα και ελαφρώς διάχυτη εμφάνιση», με ακανόνιστη όρια (De Vos et al. 2006). Εφηλίδες στη μασχालαία χώρα και εφηλίδες διάσπαρτες στο υπόλοιπο σώμα έχουν περιγραφεί σε ορισμένα παιδιά, ενώ έχουν περιγραφεί μεμονωμένοι ασθενείς με πλεγματοειδές νευροϊνωμα,

δερματικό νευροϊνωμα, οζίδια Lisch και ψευδάρθρωση της κνήμης έχουν αναφερθεί (Gallinger S et al. 2004 ; Raevaara TE et al. 2004).

Το CMMRD αποτελεί ένα ιδιαίτερο σύνδρομο προδιάθεσης σε κακοήθειες και περιλαμβάνει ένα ευρύ φάσμα όγκων/κλινικών εκδηλώσεων. Οι σχετιζόμενοι με αυτό το σύνδρομο όγκοι μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε τρεις βασικές ομάδες: αιματολογική κακοήθεια (πχ. non-Hodgkin's λεμφώματα), όγκοι στο κεντρικό νευρικό σύστημα (πχ. Υψηλού βαθμού κακοήθειας γλοιώματα και γλοιωβλαστώματα), και καρκίνωμα στο παχύ έντερο, στο ορθό και στο λεπτό έντερο (Wimmer et al. 2014). Το CMMRD δημιουργείται εξαιτίας γονιδιακών μεταλλάξεων σε ένα από τα τέσσερα γονίδια MMR. Το CMMRD αποτελεί μια σημαντική διαφοροποιημένη διάγνωση σε παιδιά με καφεγαλακτόχρες κηλίδες και κάποιου είδους κακοήθεια που δε συνάδει συνήθως με την NF1 (Wimmer et al. 2014).

1.2.4 Σύνδρομο Legius

Η NF1 ανήκει στην κατηγορία των γενετικών συνδρόμων με παθογόνες μεταλλάξεις στα γονίδια που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες, που παίζουν σημαντικό ρόλο στο RAS-MAPK pathway (Zenker 2011). Αυτά τα σύνδρομα έχουν πολλά κοινά χαρακτηριστικά, προκαλούνται όμως από παθογόνες μεταλλάξεις σε διαφορετικά γονίδια της οδού. Το σύνδρομο Legius, που ταυτοποιήθηκε το 2007 (Brems et al. 2007), αποτελεί ένα τέτοιο σύνδρομο. Προκαλείται από γονιδιακές μεταλλάξεις στο γονίδιο SPRED1 στο χρωμόσωμα 15 (Brems et al. 2007). Τα κλινικά συμπτώματα του συνδρόμου Legius μοιάζουν, κι εν μέρει συμπίπτουν, με αυτά της NF1. Το ιδιαίτερο γνώρισμα και των δύο συνδρόμων είναι οι πολλές CALMs, όμως όσοι νοσούν με το σύνδρομο Legius δεν εκδηλώνουν όγκους που συνηθίζονται στην NF1, όπως νευροϊνωμα ή οπτικό γλοίωμα (Brems et al. 2007; Brems and Legius 2013; Denayer et al. 2010). Οι νοσούντες με σύνδρομο Legius μπορεί να έχουν εφηλίδες στη μασχαλιαία και βουβωνική χώρα, δεν έχουν όμως οζίδια του Lisch, που αποτελούν ένα από τα διαγνωστικά κριτήρια της NF1 (Brems et al. 2007). Άλλες κλινικές εκδηλώσεις από το δέρμα είναι τα λιπώματα και από τα υπόλοιπα συστήματα η μακροκεφαλία, τα περίεργα χαρακτηριστικά προσώπου που προσομοιάζουν με αυτά του συνδρόμου Noonan, το κοντό ανάστημα και τέλος ο σκαφοειδής ή τροπιδοειδής θώρακας. Μερικές φορές ο

διαχωρισμός ανάμεσα στο σύνδρομο Legius και την NF1 είναι αδύνατος αν βασιστούμε μόνο στα κλινικά συμπτώματα, και ιδίως στα μικρά παιδιά. Κι αυτό εξηγείται από το γεγονός ότι τα δερματικά νευροϊνώματα και τα οζίδια του Lisch, που αποτελούν βασικά γνωρίσματα στους περισσότερους ασθενείς με NF1, συνήθως εμφανίζονται σε μεταγενέστερα στάδια της παιδικής ηλικίας ή στην εφηβεία. Εξαιτίας της κλινικής ομοιότητας με την NF1, απαιτείται γονιδιακός έλεγχος για να επιβεβαιωθεί η διάγνωση. Έχουν αναφερθεί τουλάχιστον 153 διαφορετικές μεταλλάξεις στο γονίδιο SPRED1 (Brems et al. 2007; Spencer et al. 2011; L Messiaen et al. 2009).

1.2.5 Οικογενείς πολλαπλές CALMs

Είναι αρκετά συχνή στη διεθνή βιβλιογραφία η αναφορά οικογενειών στις οποίες υπάρχουν πολλαπλές CALMs, χωρίς όμως να ανευρίσκεται κανένα άλλο κλινικό εύρημα της NF1 και καμία συνάμα ένδειξη μετάλλαξης στο γονίδιο NF1. Η οικογενής εμφάνιση πολλαπλών CALMs, φαίνεται να μεταδίδεται με τον αυτοσωματικό επικρατούντα χαρακτήρα. Η πιθανή συσχέτιση με την NF1 παραμένει ασαφής και απαιτεί περαιτέρω χαρακτηρισμό σε γενετικό επίπεδο (Charrow J et al. 1993).

Αυτή η διάγνωση θα πρέπει να τίθεται μόνο σε μεγαλύτερης ηλικίας παιδιά, όταν όλα τα άλλα χαρακτηριστικά της NF1 απουσιάζουν σαφώς και ταυτόχρονα υπάρχει εμφανές και πολλάκις επιβεβαιωμένο οικογενειακό ιστορικό πολλαπλών CALMs χωρίς κανένα άλλο στίγμα της NF1.

1.3 Νευροϊνωμάτωση τύπου 1 και κακοήθεια

Η νευροϊνωμάτωση δημιουργεί προδιάθεση σε διάφορους τύπους καλοήθων και κακοήθων όγκων καθ' όλη τη διάρκεια ζωής των ασθενών. Αρκετές μελέτες έχουν επιχειρήσει στο παρελθόν να υπολογίσουν τον κίνδυνο κακοήθειας για τα άτομα με NF1. Οι Zöller et al. ανέφεραν σε μια μακροπρόθεσμη παρακολούθηση 212 Σουηδών ασθενών με NF1 ένα σχετικό ρίσκο κακοήθειας της τάξεως του 4 (Zöller et al. 1995). Οι Walker et al. διεξήγαγαν μια μελέτη με 448 άτομα πάσχοντα με NF1 με συνολικά έτη παρακολούθησης των ασθενών τα 5,7 (Walker et al. 2006). Ανακάλυψαν ότι το συνολικό ρίσκο για κακοήθεια ήταν 2.7 φορές υψηλότερο από ότι στον γενικό πληθυσμό. Τα πιο συχνά είδη καρκίνου ήταν στον συνδετικό

ιστό και εγκεφαλικοί όγκοι (Walker et al. 2006). Οι Seminog και Goldacre (Seminog and Goldacre 2012) μελέτησαν το ρίσκο για κακοήθεια και στους δύο τύπους νευροϊνωμάτωσης, την 1 και 2 μέσω μιας μελέτης στην Αγγλία βασισμένης στον πληθυσμό και ανακάλυψαν ότι ο σχετικός κίνδυνος κακοήθειας ήταν στο 4.3. Αν λάβουμε υπόψη μόνο τα άτομα με επιβεβαιωμένη NF1, ο σχετικός κίνδυνος ήταν στο 4 (Seminog and Goldacre 2012).

Οι γυναίκες με NF1 αναφέρεται ότι έχουν υψηλότερο ρίσκο κακοήθειας σύμφωνα με κάποιες μελέτες (Airewele et al. 2001; Sørensen, Mulvihill, and Nielsen 2009), όχι όμως σύμφωνα με κάποιες άλλες (Schneider et al. 1986; Walker et al. 2006). Έχει επίσης μελετηθεί και η κληρονομικότητα αναφορικά με τον κίνδυνο κακοήθειας. Η κληρονομικότητα αυξάνει τον κίνδυνο κακοήθειας σύμφωνα με κάποιες μελέτες (Schneider et al. 1986), όχι όμως σύμφωνα με κάποιες άλλες (Airewele et al. 2001; Huson et al. 1989).

Μια από τις πιο συνήθεις επιπλοκές της NF1 είναι οι όγκοι στο έλυτρο των περιφερικών νεύρων. Ο κακοήθης όγκος περιφερικού νεύρου (MPNST) είναι ένα επιθετικό σάρκωμα μαλακών μορίων και οι μισές όλων των περιπτώσεων εμφανίζονται σε άτομα με NF1 (DG Evans et al. 2002). Επίσης, προκαλεί σημαντική νοσηρότητα και θνητότητα. Οι περισσότεροι MPNST στους ασθενείς με NF1 προέρχονται από την κακοήθη μετάλλαξη ενός νευροϊνώματος δικτυωτού τύπου. Η πρόβλεψη της μετάλλαξης όμως είναι κλινικά και ιστολογικά δύσκολη. Τα MPNST μπορεί να αναπτυχθούν και στον βαθύτερο ιστό χωρίς την προϋπαρξη ενός νευρινώματος δικτυωτού τύπου (DG Evans et al. 2002). Συνεπώς, είναι δύσκολο να ανιχνευθούν αυτού του είδους οι κακοήθειες. Η συχνότητα του MPNST στα άτομα με NF1 εκτιμάται ανάμεσα σε 2 - 19% (Ducatman et al. 1984; McGaughan et al. 1999). Η διάμεση ηλικία διάγνωσης των MPNST που σχετίζονται με την NF1 είναι αρκετά μικρότερη από ότι σε μεμονωμένα περιστατικά. Η διάμεση ηλικία διάγνωσης ήταν τα 26 έτη για τους πάσχοντες από NF1, ενώ ήταν στα 62 έτη για τους ασθενείς με μεμονωμένο MPNST (DG Evans et al. 2002). Η επιβίωση ήταν στατιστικά καλύτερη για τις γυναίκες με NF1 απ' ότι για τους άντρες με NF1 (5ετης και 10ετης επιβίωση 46% και 41.5% έναντι 22% και 8.2%, $p=0.05$) (DG Evans et al. 2002; Ingham et al. 2011). Ενδεχομένως τα ευνοϊκότερα ποσοστά επιβίωσης στις γυναίκες να οφείλονται σε διάγνωση σε πιο πρώιμο στάδιο (Ingham et al. 2011).

Η βασική αιτία θνησιμότητας για τους ασθενείς με NF1 είναι το MPNST. Οι Evans et al. παρατήρησαν ότι το 26% των θανάτων οφείλονταν σε αυτή την πάθηση (D Gareth R Evans et al. 2011). Η πενταετής επιβίωση από τη στιγμή της διάγνωσης σημειώθηκε στο 21% για τους ασθενείς με NF1 και MPNST, ενώ στις μεμονωμένες περιπτώσεις MPNST ήταν στο 42% (DG Evans et al. 2002). Τα MPNST κάνουν συχνά μετάσταση σε αρχικό στάδιο και έχουν κακή πρόγνωση. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι το MPNST είναι ένας επιθετικός όγκος με μεγάλη πιθανότητα επανεμφάνισης κι έχει επιθετική φύση. Η προτιμώμενη βασική θεραπεία για μεγαλύτερους όγκους είναι η ολική αφαίρεση, όμως ο εντοπισμός, το μέγεθος και οι μεταστάσεις πολλές φορές καθιστούν δύσκολη την επέμβαση (Friedrich, Hartmann, and Mautner 2007). Τα κύτταρα του MPNST υποθάλπουν σύνθετες γονιδιακές αλλοιώσεις (Perry et al. 2001).

Έχει, επίσης, αναφερθεί αρκετά αυξημένη συχνότητα διαφόρων ειδών καρκίνου στα άτομα με NF1. Οι στρωματικοί όγκοι του γαστρεντερικού συστήματος (GIST) συνήθως παρουσιάζονται μεμονωμένα, έχουν συνδεθεί όμως σε μεγάλο βαθμό με τα άτομα με NF1 (Maertens et al. 2006). Οι GIST είναι μεσεγχυματικοί όγκοι που προέρχονται από το ενδιάμεσο κύτταρο του Cajal και αποτελούν τους πιο συνηθισμένους μη-επιθηλιακούς όγκους του γαστρεντερικού σωλήνα. Οι GIST που συνδέονται με την NF1 δεν έχουν τις μεταλλάξεις που συναντώνται σε μεμονωμένα GIST. Αντιθέτως, οι GIST που συναντώνται σε όσους νοσούν με NF1 μεταφέρουν μια δεύτερη μετάλλαξη του γονιδίου της NF1 (Maertens et al. 2006). Επίσης, οι GIST που σχετίζονται με τη νευροϊνωμάτωση εκδηλώνονται σαν πολλαπλοί όγκοι, το οποίο δεν είναι σύνηθες στις μεμονωμένες περιπτώσεις (Brems et al. 2007).

Το φαιοχρωμοκύττωμα είναι όγκος των επινεφριδίων, ο οποίος αναφέρεται κλινικά σε ποσοστό 0.1-5.7% σε ασθενείς με NF1 (Walther et al. 1999). Οι μοριακές γενετικές αναλύσεις έχουν δείξει μια σύνδεση ανάμεσα στην NF1 και την παθογένεση των φαιοχρωμοκυττωμάτων (Bausch et al. 2007).

Η JMML φαίνεται να εκδηλώνεται σε μεγάλο βαθμό στα παιδιά με NF1 (Niemeyer et al. 1997; Stiller, Chessells, and Fitchett 1994). Η JMML είναι ένα σπάνιο σύνδρομο που αντιπροσωπεύει περίπου το 2% όλων των παιδιατρικών αιματολογικών κακοηθειών στον γενικό πληθυσμό. Έχει διαπιστωθεί η σχέση της

NF1 με την JMML (Side et al. 1997). Τα ραβδομυοσαρκώματα έχουν συσχετιστεί, επίσης, με την NF1 (Matsui et al. 1993).

1.4 NF1 γονίδιο

Το γονίδιο NF1 εντοπίζεται στον μακρύ βραχίονα του χρωμοσώματος 17 στη θέση 11.2 (17q11.2). Το μεγάλο μέγεθος του γονιδίου είναι συναφές με τον πολύ υψηλό και αυθόρμητο ρυθμό ανάπτυξης. Το ανθρώπινο γονίδιο NF1 κλωνοποιήθηκε τη δεκαετία του 1990 ταυτόχρονα από τους Wallace et al. και τους Viskochil et al. (David Viskochil et al. 1990; Wallace et al. 1990). Το γονίδιο NF1 είναι εξελικτικά προστατευμένο. Ο αξιοσημείωτα υψηλός βαθμός διατήρησης της αλληλουχίας της NF1 ανάμεσα στους ανθρώπους και τα ποντίκια αναφέρθηκε για πρώτη φορά από τους Bernardts et al. (Bernardts et al. 1993). Ανακάλυψαν μια ταυτοποίηση στην αλληλουχία που έφτανε πάνω από το 98% ανάμεσα στα δύο είδη (Bernardts et al. 1993). Το γονίδιο αυτό που είναι υπεύθυνο για την εκδήλωση της NF1 κωδικοποιεί την πρωτεΐνη νευροϊνωμίνη με ογκοκατασταλτική δράση, η οποία εμπλέκεται στο μονοπάτι της ενδοκυτταρικής τριφωσφορικής Ras-γουανοσίνης, το οποίο ρυθμίζει τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των κυττάρων (Cawthon RM et al., 1990). Η Νευροϊνωμίνη αναστέλλει τη δράση της Ras-γουανοσινوترιφωσφατάσης (GTPase): όταν λαμβάνει χώρα μετάλλαξη στο γονίδιο της NF1, η ενεργοποίηση του Ras συμβαίνει και οδηγεί σε αυξημένη σηματοδότηση μέσω καταβολικών οδών ενεργοποιητών, όπως η ενεργοποιημένη μιτογόνος πρωτεϊνική κινάση (MAPK) (Aoki Y, et al., 2008).

Το γονίδιο NF1 έχει ένα από τα υψηλότερα ποσοστά αυτόματης μετάλλαξης μεταξύ των γνωστών ανθρώπινων γονιδίων, καθότι περίπου το 50% των ασθενών παρουσιάζουν de novo μεταλλάξεις και επομένως δεν υπάρχει οικογενειακό ιστορικό NF-1.

1.4.1 NF1 ψευδογονίδια

Αρκετές αλληλουχίες που μοιάζουν με της NF1, δηλαδή ψευδογονίδια, έχουν ανακαλυφθεί στο ανθρώπινο γονιδίωμα -μέχρι στιγμής στα χρωμοσώματα 2, 12, 14, 15, 18, 21 και 22 (H. Kehrer-Sawatzki et al. 1997; Legius et al. 1992; Luijten et al. 2014; Purandare et al. 1995; Suzuki et al. 1994). Πολλές από αυτές τις

ψευδογονιδιακές αλληλουχίες παρουσιάζουν μια σημαντική ομολογία στην αλληλουχία της NF1 που ξεπερνάει το 90% (Meena Upadhyaya et al. 2008). Πιστεύεται ότι τα ψευδογονίδια NF1 προέκυψαν κατά την εξέλιξη (Luijten et al. 2014).

1.4.2 Νευροϊνωμίνη

Τα ογκοκατασταλτικά γονίδια, όπως είναι το NF1, κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες που είναι υπεύθυνες για τον έλεγχο του διαχωρισμού των κυττάρων, επομένως, μια μετάλλαξη που προκαλεί απώλεια αυτής της λειτουργίας τέτοιων γονιδίων μπορεί να συμβάλλει στη δημιουργία όγκων. Το γονίδιο NF1 πυροδοτεί τη σύνθεση της πρωτεΐνης νευροϊνωμίνη, της οποίας η δραστηριότητα είναι μειωμένη στα άτομα με NF1. Η νευροϊνωμίνη είναι μια τεράστια πρωτεΐνη 2,818 αμινοξέων εκφραζόμενη σε χαμηλές συγκεντρώσεις στους περισσότερους ιστούς και κατά την ανάπτυξη αλλά σε υψηλότερα επίπεδα στα κύτταρα του κεντρικού νευρικού συστήματος και του εγκεφάλου (Wallace et al. 1990). Η νευροϊνωμίνη αρχικά ανακαλύφθηκε ως κυτοσολική πρωτεΐνη (DeClue, Cohen, and Lowy 1991) αλλά πλέον θεωρείται ότι σχετίζεται τουλάχιστον με την πλασματική μεμβράνη, το ενδοπλασματικό δίκτυο και με τα μιτοχόνδρια (Malhotra and Ratner 1994; Nordlund et al. 1993; Roudebush et al. 1997). Οι Xu et al. ανακάλυψαν ότι το γονίδιο NF1 κωδικοποιεί μια κυτταροπλασματική πρωτεΐνη (G. Xu et al. 1990). Η νευροϊνωμίνη θεωρείται ογκοκατασταλτική πρωτεΐνη και η πιο γνωστή της αρμοδιότητα είναι η βιορύθμιση λειτουργικά ενεργών πρωτεϊνών RAS ή η ρύθμιση των κυτταρικών επιπέδων των ενεργών πρωτεϊνών RAS. Η αυξημένη δραστηριότητα Ras μπορεί να σχετίζεται και με τη μαθησιακή δυσκολία που προκαλείται από την NF1 (Shilyansky, Lee, and Silva 2010). Κάποιες ακόμη πρωτεΐνες, πέρα από την Ras, φαίνεται να αλληλεπιδρούν με τη νευροϊνωμίνη. Κάποιες από αυτές είναι, για παράδειγμα, η tubulin (Bollag, McCormick, and Clark 1993), η kinesin-1 (Hakimi, Speicher, and Shiekhhattar 2002), η syndecan (Hsueh et al. 2001), η caveolin- 1 (Boyanapalli et al. 2006) και η Spred1 (Dunzendorfer-Matt et al. 2016).

1.5 NF1 μεταλλάξεις

Η μετάλλαξη αποτελεί μια μόνιμη αλλαγή στο DNA που οφείλεται σε ατυχήματα και λάθη κατά την αποθήκευση και αντιγραφή των γενετικών πληροφοριών. Η ομόζυγη έλλειψη του γονιδίου NF1 αποβαίνει μοιραία στα ποντίκια, το οποίο υποδηλώνει ότι η νευροϊνωμίνη είναι αναγκαία για την ανάπτυξη (Jacks et al. 1994). Στους ασθενείς με NF1, το γονίδιο NF1 δεν είναι λειτουργικό εξαιτίας γονιδιακής μετάλλαξης. Το NF1 είναι ογκοκατασταλτικό γονίδιο, επομένως η μετάλλαξή του οδηγεί σε ογκογένεση. Η απώλεια της λειτουργικότητας της νευροϊνωμίνης, εξαιτίας των μεταλλάξεων στο γονίδιο NF1, προκαλεί μειωμένα επίπεδα ενεργών Ras-GTP πρωτεϊνών και αυτό έχει ως αποτέλεσμα τον αυξημένο πολλαπλασιασμό των κυττάρων και την απώλεια ελέγχου της ανάπτυξης τους (M Upadhyaya 2010).

Ο ρυθμός μετάλλαξης του γονιδίου NF1 (~1:10,000) είναι από τους υψηλότερους όλων των ανθρωπίνων γονιδίων (Friedman 2019). Αυτό μπορεί να αιτιολογηθεί, εν μέρει, από το μεγάλο μέγεθος του γονιδίου. Παρόλα αυτά, ο κύριος λόγος αυτού του ασυνήθιστα υψηλού ρυθμού μετάλλαξης παραμένει σχετικά άγνωστος. Περίπου οι μισές περιπτώσεις νευροϊνωμάτωσης προέρχονται από εκ νέου μετάλλαξη, δηλαδή, υγιείς γονείς να έχουν απόγονο με NF1 (Huson et al. 1989) (Huson et al. 1989). Σύμφωνα με την Human Gene Mutation Database (HGMD), έχουν αναφερθεί μέχρι στιγμής 2,689 διαφορετικές μεταλλάξεις του γονιδίου NF1. Έχουν ταυτοποιηθεί πάνω από 2,800 παθογενετικές παραλλαγές της NF1 (Koczkowska et al. 2018). Δεν υπάρχουν στοιχεία για συγκεκριμένα σημεία κατά μήκος του γονιδίου, όπου συντελείται η μετάλλαξη. Οι μεταλλάξεις του γονιδίου NF1 εκτείνονται σε όλη την κωδικοποιούσα αλληλουχία και περιλαμβάνουν ένα ποικιλόμορφο φάσμα μεταλλάξεων (L Messiaen et al. 2009).

Δεν υπάρχουν στοιχεία ότι ενδοοικογενειακά μπορεί να μεταφερθεί η μετάλλαξη NF1 από τη μία γενιά στην επόμενη από κάποιον που έχει τη μετάλλαξη αλλά δεν έχει τον φαινότυπο NF1. Με βάση τα ως τώρα γνωστά στοιχεία, η διεισδυτικότητα της NF1 ολοκληρώνεται μετά το πέρας της παιδικής ηλικίας, που σημαίνει ότι όλα τα άτομα με γονιδιακή μετάλλαξη NF1 έχουν κάποια φαινοτυπικά χαρακτηριστικά του συνδρόμου (Huson et al. 1989; D Viskochil 2002). Παρά τις πολυάριθμες προσπάθειες, δεν επετεύχθη η εύρεση συσχετισμού ανάμεσα σε μια συγκεκριμένη γονιδιακή μετάλλαξη NF1 και ένα χαρακτηριστικό

κλινικό φαινότυπο (Szudek, Joe, and Friedman 2002). Αυτό υποδηλώνει ότι το είδος μετάλλαξης του ίδιου του γονιδίου NF1 δεν παίζει τόσο σημαντικό ρόλο στον κλινικό φαινότυπο και τη σοβαρότητα ή την εξέλιξη της ασθένειας στους νοσούντες.

Παρατηρείται πολύ έντονη ενδοοικογενειακή και δια οικογενειακή κλινική ποικιλομορφία σε πολλές γενεαλογίες της NF1, ακόμη κι αν όλα τα νοσούντα άτομα φέρουν τις ίδιες μεταλλάξεις NF1. Αυτό που προκαλεί προβληματισμό είναι ότι ο φαινότυπος καθορίζεται από την πρωταρχική μετάλλαξη, την ηλικία του ασθενή, τη χρονική στιγμή του δεύτερο κύματος μεταλλάξεων σε διάφορα κύτταρα και ιστούς, τον φαινόμενο μωσαϊκισμού, καθώς και ρυθμιστικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες (Rojnueangnit et al. 2015).

1.6 Ανάλυση μεταλλάξεων NF1

Τον 21ο αιώνα κατέστη δυνατή κι απέκτησε μεγάλη ζήτηση η μοριακή διαγνωστική της NF1. Η ανάλυση των μεταλλάξεων της NF1 είναι δύσκολη διαδικασία εξαιτίας του μεγάλου μεγέθους και της συνθετότητας του γονιδίου, της ύπαρξης ενός ιδιαίτερα ποικιλόμορφου φάσματος μεταλλάξεων και της παρουσίας των ψευδογονιδίων NF1 (Luijten et al. 2014; L Messiaen et al. 2009). Παρόλα αυτά, έχει αποδειχθεί πολύτιμη η ανάλυση των μεταλλάξεων του γονιδίου NF1, κυρίως στα μικρά παιδιά που ενδεχομένως να πληρούν μόνο εν μέρει τα κλινικά κριτήρια. Το ίδιο ισχύει και για όσους ενήλικες έχουν ασυμπτωματική κλινική εικόνα. Επίσης, ο προγεννητικός έλεγχος μπορεί να υποδηλώνει την ανάγκη ανάλυσης μεταλλάξεων της NF1.

Έχουν εφαρμοστεί αρκετές διαφορετικές τεχνικές για την εύρεση μεταλλάξεων σε αυτό το γονίδιο. Η ομάδα του Fahsold εξέτασε 500 άτομα με NF1 που δεν είχαν μεταξύ τους συγγενική σχέση, ψάχνοντας για μεταλλάξεις στο γονίδιο NF1 μέσω διαφόρων τεχνικών ανάλυσης (Fahsold et al. 2000). Η αποτελεσματικότητα αυτών των μεθόδων ήταν παρόμοια. Οι Ars et al. (Ars et al. 2000) εφάρμοσαν μια μεθοδολογία εξέτασης ολόκληρου του cDNA της NF1 σε μια μελέτη 80 ατόμων με NF1 χωρίς κάποια μεταξύ τους συγγένεια. Αυτή η μέθοδος κατάφερε να εντοπίσει μεταλλάξεις στο 87% των ενδοοικογενειακών περιπτώσεων, αλλά μόλις στο 51% των μεμονωμένων. Για την ανάλυση των μεταλλάξεων, οι Han et al. εφάρμοσαν μία μέθοδο της χρωματογραφίας (Han, Cooper, and Upadhyaya 2001). Η

αποτελεσματικότητα της μεθόδου αξιολογήθηκε σε μια αναδρομική μελέτη μιας ομάδας 111 ατόμων με NF1, χωρίς μεταξύ τους συγγένεια, με γνωστές γονιδιακές μεταλλάξεις, και εντοπίστηκαν οι μεταλλάξεις στο 97% εξ αυτών. Σε μια μεταγενέστερη διερευνητική ανάλυση 50 μη συγγενικών μεταξύ τους ατόμων με NF1, οι γονιδιακές μεταλλάξεις εντοπίστηκαν στο 68% των ασθενών (LM Messiaen et al. 2000).

Μέσω της ανάλυσης άμεσης αλληλουχίας μπορεί να εντοπιστεί νοσογόνος μετάλλαξη περίπου έως και στο 80% των ασθενών που πληρούν τα διαγνωστικά κριτήρια NF1 (Minkelen et al. 2014). Ο Frederick Sanger ανέπτυξε την παραδοσιακή τεχνική αλληλουχίας DNA το 1977 (Sanger, Nicklen, and Coulson 1977). Η ολοκλήρωση του Human Genome Project το 2001 οδήγησε στην βαθύτερη κατανόηση του γονιδιώματος. Όμως, η πρώτη αλληλουχία ανθρώπινου γονιδιώματος με την παραδοσιακή τεχνική του Sanders χρειαζόνταν περίπου 13 χρόνια και περίπου 3 δισεκατομμύρια δολάρια (Venter et al. 2001). Το 2005 πρωτοεισήχθη η μέθοδος αλληλουχίας νέας γενιάς (NGS) (Margulies et al. 2005). Η εύρεση νέων μεθόδων αλληλουχίας έκανε πιο αποδοτική αυτή τη διαδικασία και η παραλληλοποίηση των αλληλουχιών αύξησε τον αριθμό των παραγόμενων αποτελεσμάτων (Buermans and den Dunnen 2014). Οι μέθοδοι NGS ενισχύουν την ταυτόχρονη και γρήγορη αλληλουχία εκατομμυρίων μορίων DNA με μειωμένο κόστος. Με την NGS μπορεί να επιτευχθεί αυτή η διαδικασία για ένα ανθρώπινο γονιδίωμα μέσα σε μια εβδομάδα και για 1,000 δολάρια ("DNA Sequencing Costs: Data" n.d.). Ένα ακόμα θετικό στοιχείο της μεθόδου είναι η πολυχρηστικότητα του (Müllauer 2017). Για να θεωρηθεί επιτυχής αυτή η διαδικασία, όμως, απαιτείται εμπειρία και στον τομέα του εργαστηρίου αλλά και της βιοπληροφορικής ώστε να διασφαλιστεί η ύψιστη ποιότητα δεδομένων και ερμηνείας αυτών (Buermans and den Dunnen 2014).

Η NGS έχει χρησιμοποιηθεί για την ανάλυση μεταλλάξεων της NF1 σε κάποιες μελέτες. Δεν είναι απαραίτητη η αλληλουχία ολόκληρου του γονιδιώματος, αλλά αντιθέτως έχει χρησιμοποιηθεί στοχευμένη επανεξέταση του μεγάλου γονιδίου NF1 καθώς και άλλων γονιδίων που συνδέονται με την ασθένεια. Οι Chou et al. εφάρμοσαν την τεχνική σε δύο δείγματα NF1 (Chou et al. 2010). Οι Maruoka et al. χρησιμοποίησαν το γονίδιο NF1 μαζί με 108 αιτιογενή γονίδια για τα πιο συνηθισμένα σύνδρομα με εκ γενετής δυσμορφία (Maruoka et al. 2014). Με την

τεχνική NGS μπόρεσαν να εντοπίσουν το 92.1% των μεταλλάξεων. Οι Cunha et al. εντόπισαν το 91% από τις μεταλλάξεις. Παρομοίως, χρησιμοποιήθηκε από τους Cali et al. για να εντοπιστούν οι μεταλλάξεις στα άτομα με κλινική διάγνωση NF1 (Cali et al. 2017). Με αυτή τη μέθοδο ταυτοποιήθηκαν συνολικά 73 μεταλλάξεις σε 79 ασθενείς.

Οι χαμηλού κόστους συστοιχίες γονότυπου, επιτρέπουν στους ερευνητές να εκτελούν αμερόληπτες μελέτες συσχέτισης σε όλο το μήκος του ανθρώπινου γονιδιώματος (GWAS). Το GWAS μπορεί να σαρώσει εκατομμύρια κοινά SNP και να επιχειρήσει τη συσχέτισή τους με ανθρώπινα σύνθετα χαρακτηριστικά (Manolio TA. 2010). Το ρεπερτόριο του κοινής ανθρώπινης αλληλουχίας DNA, πλέον παρέχει ικανοποιητική κάλυψη όλων των κοινών παραλλαγών του ανθρώπινου γονιδιώματος (Altshuler D. et al. 2008). Μια στρατηγική θα μπορούσε να είναι να μελετηθεί ένας μικρός αριθμός ατόμων με υψηλής πυκνότητας γονιδιώματος τεχνολογίες, ακολουθούμενες από πρόσθετα θέματα ή/και επιπλέον πολυμορφισμούς ενός νουκλεοτιδίου (SNP) σε περιοχές ενδιαφέροντος που προσδιορίζονται με αυτόν τον τρόπο. Με την εμφάνιση μεθόδων και δεδομένων αλληλουχίας επόμενης γενιάς (NGS), από το Σχέδιο των 1000 γονιδίων, 64 ερευνητές πρέπει να επιλέξουν μεταξύ (ή να συνδυάσουν) πολλαπλές στρατηγικές για τη δημιουργία και τη δοκιμή ενός πάνελ αναφοράς πολυμορφικών θέσεων γονιδιώματος (Lander ES. et al. 2011). Οι μέθοδοι αυτοί υπόσχονται πολλά για την αναγνώριση γονιδίων τροποποίησης στην NF1. Το πρώτο και ίσως το πιο σημαντικό βήμα στην αναζήτηση για τα γονίδια τροποποίησης, είναι η επιλογή ενός συγκεκριμένου κλινικού χαρακτηριστικού και του όσο το δυνατόν πιο σχετικού πληθυσμού μελέτης. Οι εκδηλώσεις της NF1 θα πρέπει να διαφοροποιηθούν σε διαφορετικά επίπεδα (χαρακτηριστικά, συνέπειες και επιπλοκές) προκειμένου να προσδιοριστεί επακριβώς η σχέση μεταξύ γενετικών τροποποιητών και φαινοτυπικών χαρακτηριστικών (Riccardi VM. 2010).

Ειδικό μέρος

1.1 Σκοπός

Σκοπός της παρούσας διατριβής είναι η διερεύνηση και αξιολόγηση της φαινοτυπικής ποικιλότητας καθώς επίσης και της συσχέτισης φαινοτύπου – γονοτύπου των CALMs σε παιδιατρικούς ασθενείς με NF1.

Με βάση τον στόχο της έρευνας, διαμορφώθηκαν τα παρακάτω ερευνητικά ερωτήματα, τα οποία θα απαντηθούν μέσω της στατιστικής ανάλυσης::

- 1) Υπάρχει ομοιογένεια στη διακύμανση της ποσότητας μελανίνης κάθε ασθενή;
- 2) Υπάρχει διαφορά στη διάμεση τιμή της ποσότητας μελανίνης, μεταξύ των ασθενών;
- 3) Σχετίζεται η διάμεση τιμή της ποσότητας μελανίνης των CALMs κάθε ασθενή με τον γονότυπό του;
- 4) Σχετίζεται το μέγεθος της κηλίδας με την ποσότητα της μελανίνης;
- 5) Σχετίζεται ο αριθμός των κηλίδων με την ηλικία;
- 6) Σχετίζεται ο αριθμός των κηλίδων με το φύλο;
- 7) Σχετίζεται ο αριθμός των κηλίδων με το οικογενειακό ιστορικό;
- 8) Σχετίζεται ο αριθμός των κηλίδων με την ύπαρξη JXG;
- 9) Σχετίζεται ο αριθμός των κηλίδων με την ύπαρξη ΠΝ;
- 10) Σχετίζεται η δυσπλασία σφηνοειδούς οστού με την ύπαρξη JXG ή ΠΝ;
- 11) Σχετίζεται η ψευδάρθρωση με την ύπαρξη νεανικού ξανθοκοκκιώματος ή ΠΝ;
- 12) Σχετίζεται η σκολίωση με την ύπαρξη JXG ή ΠΝ;
- 13) Σχετίζεται το παθολογικό ιστορικό του ΚΝΣ με την ύπαρξη JXG ή ΠΝ;
- 14) Σχετίζεται το γλοιώμα με την ύπαρξη JXG ή ΠΝ;
- 15) Σχετίζεται η ύπαρξη οζιδίων του Lisch με την JXG ή ΠΝ;
- 16) Σχετίζεται η διάμεση τιμή της ποσότητας μελανίνης των CALMs με το βιολογικό φύλο;
- 17) Σχετίζεται η διάμεση τιμή της ποσότητας μελανίνης των CALMs με την ύπαρξη JXG ή ΠΝ;

- 18) Σχετίζεται η διάμεση τιμή της ποσότητας μελανίνης των CALMs με τον γονότυπο;
- 19) Διαφέρει το μέγεθος της κηλίδας βάσει της ανατομικής της θέσης;

1.2 Σχεδιασμός μελέτης

Η έρευνα περιλαμβάνει ένα δείγμα 63 παιδιών, ηλικίας 6 μηνών μέχρι 16 ετών, ανεξαρτήτου φύλου, που πάσχουν από NF1.

Από την αρχή της μελέτης εξασφαλίστηκε η συναίνεση των δυνητικών συμμετεχόντων. Η συμμετοχή είναι εθελοντική. Τα δικαιώματα των συμμετεχόντων θα διαφυλαχθούν καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης. Ειδικότερα οι ερευνητές θα διασφαλίσουν τη συναίνεση μετά από διεξοδική ενημέρωση των γονέων ή κηδεμόνων των παιδιών, μέσω γραπτής συγκατάθεσης. Επιπλέον οι ερευνητές θα προστατεύσουν το δικαίωμα σωματικής-ψυχικής ακεραιότητας και αποφυγής βλάβης, το δικαίωμα αυτονομίας και το δικαίωμα της ιδιωτικότητας για κάθε συμμετέχοντα.

Η συλλογή των δειγμάτων θα γίνει με τα εξής κριτήρια:

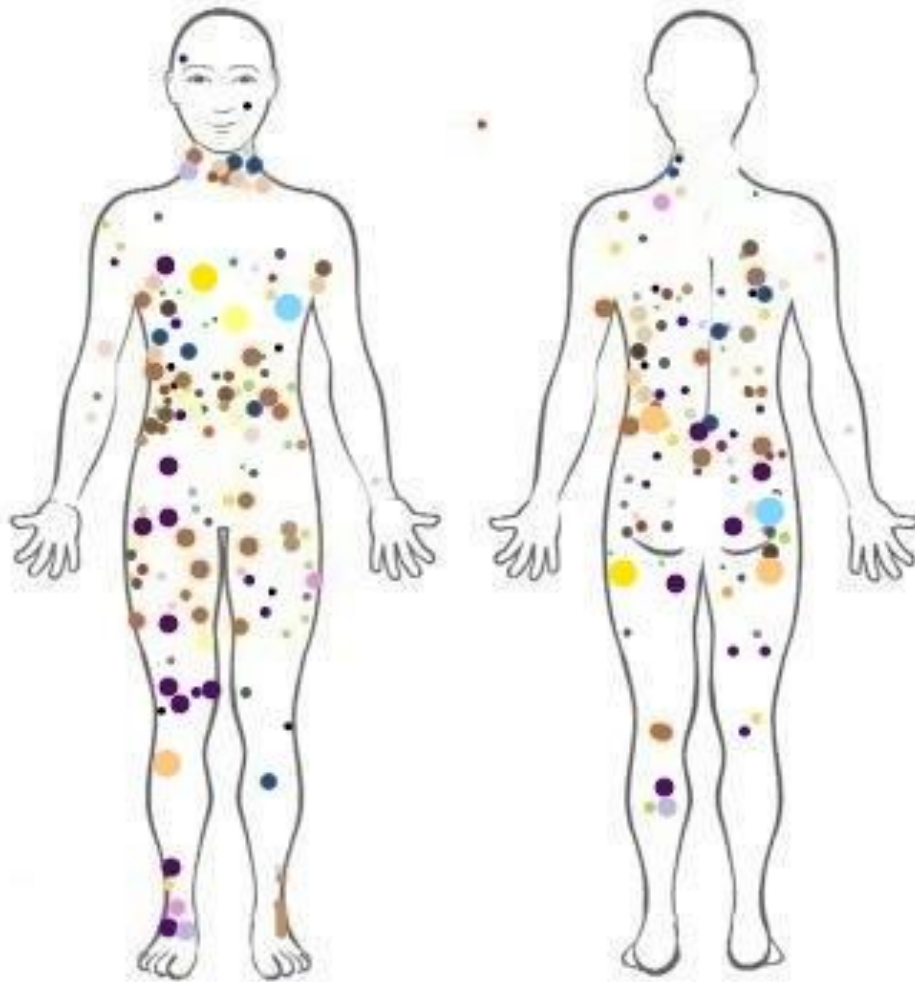
- Ηλικία 6 μηνών μέχρι 16 ετών.
- Παρουσία τουλάχιστον έξι (6) CALMs, βάσει των διαγνωστικών κριτηρίων (“The National Institutes of Health (NIH) Consensus Development Program: Neurofibromatosis” 1987)
- Γενετική/ γονιδιακή διάγνωση της NF1 .

Έγινε καταγραφή του φύλου, της ηλικίας, του οικογενειακού ιστορικού Νευροϊνωμάτωσης των παιδιών αυτών, και του παθολογικού τους ιστορικού (ΠΝ, αριθμός ΠΝ, JXG, δυσπλασία σφηνοειδούς οστού, ψευδάρθρωση, σκολίωση, ΚΝΣ, οπτικό νεύρο-ΚΝΣ, γλοιώμα, οζίδια Lisch).

Πραγματοποιήθηκε καθολική σωματική φωτογράφιση με ψηφιακή φωτογραφική μηχανή, για τον καθορισμό της κατανομής των CALMs. Ακολούθησε καταγραφή και αρίθμηση όλων των CALMs σε συγκεκριμένο διάγραμμα σώματος (εικόνα 1). Επειδή ο συνολικός αριθμός των CALMs διαφέρει από παιδί σε παιδί, προκειμένου να υπάρχει υψηλότερο επίπεδο αξιοπιστίας στη στατιστική ανάλυση (Brunner et al. 2018; Alamolhoda, Ayatollahi, and Bagheri 2017), μελετήθηκαν έξι κηλίδες σε κάθε παιδί.

Η φασματοσκοπία ανάκλασης έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς στη δερματολογική έρευνα για την αντικειμενική καταμέτρηση του χρώματος του δέρματος. Το σπεκτοφωτόμετρο στενής ζώνης που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα έρευνα, υπολογίζει τη σχετική απορρόφηση της μελανίνης βασιζόμενο στην απορρόφηση του ορατού φωτός και ταυτόχρονα παρέχει ικανοποιητικές μετρήσεις του ποσοστού του ερυθήματος και του χρωματισμού, αντίστοιχα (εικόνες 2 και 3). Ο γενετικός έλεγχος έλαβε χώρα στο Εργαστήριο Ιατρικής Γενετικής του Πανεπιστημίου Αθηνών (Χωρέμιο Ερευνητικό Εργαστήριο, Νοσοκομείο Παιδων «Αγία Σοφία»). Τα παιδιά που συμμετείχαν στη μελέτη χωρίστηκαν, βάσει του γονότυπου, σε δύο ομάδες:

- Ομάδα Α (Nonsense mutation / Frameshit)
- Ομάδα Β (Missence mutation / Splicing / In frame)



Εικόνα 1. Κατανομή των CALMs με διάμετρο >3 cm, στους 60 ασθενείς με Νευροϊνωμάτωση τύπου 1 (κάθε χρώμα αντιπροσωπεύει έναν ξεχωριστό ασθενή, οι πρώτοι 33 ασθενείς με κηλίδες διαμέτρου 6 και οι υπόλοιποι 27 ασθενείς με κηλίδες διαμέτρου 4 στην απεικόνιση)

DSM III Skin Colormeter



Εικόνα 2. Σπεκτοφωτόμετρο στενής ζώνης που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα έρευνα



CORTEX TECHNOLOGY

Plastvaenget 9 9560 Hadsund Denmark

t.: +45 9857 4100 Fax: +45 9857 2223 cortex@cortex.dk www.cortex.dk

Εικόνα 3. Σπεκτοφωτόμετρο στενής ζώνης που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα έρευνα

1.3 Δειγματοληπτική μεθοδολογία

Ως καταλληλότερη μέθοδος, για την συλλογή των δεδομένων της παρούσας μελέτης, κρίθηκε η δειγματοληψία «ευκολίας» (convenience sampling), καθώς συμμετέχουν σε αυτή όσα άτομα είναι άμεσα προσβάσιμα και πρόθυμα να συμμετάσχουν.

Η ερευνητική χρησιμότητα ενός τέτοιου δείγματος δεν ενδείκνυται για εξαγωγή γενικευμένων συμπερασμάτων. Ωστόσο, αυτή η τεχνική δειγματοληψίας είναι ευρέως διαδεδομένη όταν δεν υπάρχει άμεση πρόσβαση στον υπό μελέτη πληθυσμό. Θεωρείται ότι τα αποτελέσματα της έρευνας μπορούν να γενικευθούν σε πληθυσμούς που έχουν χαρακτηριστικά παρόμοια με αυτά το δείγματος.

Λόγω του γεγονότος ότι το ιατρείο Νευροδερματικών νοσημάτων της Α΄ Πανεπιστημιακής Παιδιατρικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών αποτελεί σημείο αναφοράς και το επισκέπτονται παιδιά από όλη την Ελλάδα (παραπέμπονται σε αυτό από Ιδιωτικά και Δημόσια Παιδιατρικά Νοσοκομεία), θεωρούμε πως αυξάνεται κατακόρυφα ο βαθμός αντιπροσωπευτικότητας στον γενικότερο πληθυσμό. Ως εκ τούτου, τα συμπεράσματα της μελέτης, ακόμη κι αν δεν μπορούν να γενικευτούν πλήρως, είναι σε θέση να καταγράψουν, με υψηλή αξιοπιστία, την τάση των αποτελεσμάτων στον ελληνικό πληθυσμό.

1.4 Περιβάλλον μελέτης

Τα παιδιά με NF1, που συμμετέχουν στη μελέτη, προέρχονται από το ιατρείο Νευροδερματικών νοσημάτων της Α΄ Πανεπιστημιακής Παιδιατρικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών.

1.5 Τυχαιοποίηση

Ενώ η μέθοδος δειγματοληψίας έχει να κάνει με την ικανότητά γενίκευσης, η τυχαιοποίηση σχετίζεται με την ικανότητά εξαγωγής αιτιωδών συμπερασμάτων. Η τυχαιοποίηση, σε ότι αφορά την επιλογή έξι κηλίδων -στα παιδιά με περισσότερες από έξι κηλίδες- έγινε μέσω ενός πίνακα τυχαίων αριθμών έτσι ώστε όλες οι CALMs, ανά παιδί, να έχουν τις ίδιες πιθανότητες να επιλεγούν.

1.6 Στατιστική μεθοδολογία

Για την περιγραφική στατιστική ανάλυση, οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέση τιμή (M: mean), τυπική απόκλιση (SD: standard deviation), διάμεση τιμή (Mdn: median) και ενδοτεταρτημοριακό εύρος (IQR: interquartile range), ενώ οι διακριτές ως συχνότητα (N) και σχετική συχνότητα (N%).

Για τον έλεγχο της συνθήκης της κανονικότητας χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία Shapiro-Wilk και η, παράλληλη, μελέτη των γραφημάτων «Normal Q-Q plot», «Detrended Normal Q-Q plot», και «Box Plot». Για τον έλεγχο της ισότητας των πληθυσμιακών διακυμάνσεων εφαρμόστηκε το τεστ του Levene.

Για τον έλεγχο ισότητας των διάμεσων τιμών περισσότερων από δύο ανεξάρτητων πληθυσμών έγινε χρήση του Mood's median test. Η χρήση της συγκεκριμένης δοκιμασίας, αντί του ελέγχου των Kruskal-Wallis, είναι πιο ισχυρή στην περίπτωση ύπαρξης ακραίων τιμών.

Για τη συγκριτική μελέτη των μέσων τιμών μίας συνεχούς μεταβλητής, μεταξύ των δύο ομάδων, έγινε χρήση του t-test για ανεξάρτητα δείγματα ή του ελέγχου των Mann-Whitney, ανάλογα με την ικανοποίηση της προϋπόθεσης της κανονικότητας.

Για τη διερεύνηση της ύπαρξης σχέσης μεταξύ δύο ποσοτικών μεταβλητών χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής συσχέτισης του Pearson ή του Spearman, ανάλογα με το αν ακολουθούσαν την κανονική κατανομή ή όχι. Για τη μελέτη της σχέσης μεταξύ μίας συνεχούς και μίας ονομαστικής μεταβλητής έγινε χρήση της ανάλυσης διασποράς (ANOVA) ή του ελέγχου των Kruskal-Wallis, ανάλογα με την ικανοποίηση της προϋπόθεσης της κανονικότητας. Για τη μελέτη της σχέσης μεταξύ δύο κατηγορικών μεταβλητών εφαρμόστηκε ο έλεγχος χ^2 -ανεξαρτησίας ή ο έλεγχος του Fischer (στην περίπτωση που παραβιάζονται οι βασικές προϋποθέσεις χρήσης της κατανομής χ^2).

Για την στατιστική επεξεργασία των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό SPSS (25η έκδοση). Η τιμή $p < 0.05$ θεωρήθηκε ότι υποδεικνύει στατιστική σημαντικότητα και όλες οι δοκιμές ήταν δύο όψεων.

1.7 Ηθικά και δεοντολογικά ζητήματα

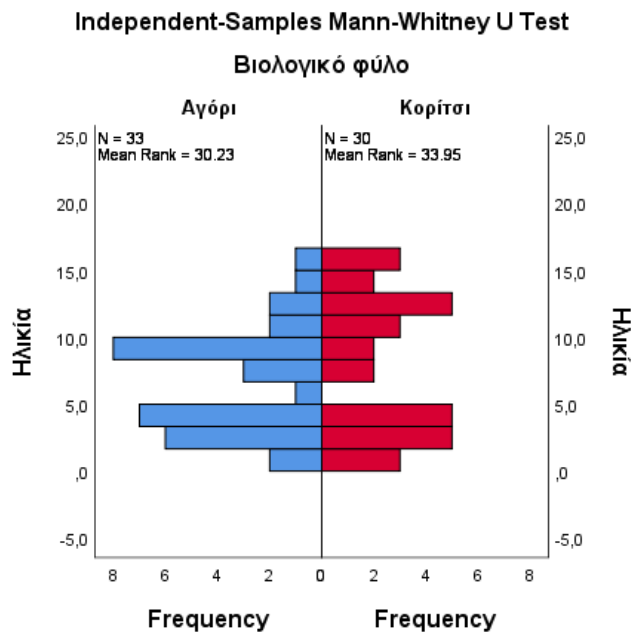
Αρχικά, για τη χρήση του αρχείου ασθενών ζητήθηκε έγκριση του Επιστημονικού Συμβουλίου και της Επιτροπής Ηθικής & Δεοντολογίας καθώς και η γραπτή γονική συναίνεση. Εν συνεχεία, οι καρτέλες όλων των ατόμων, που συμμετείχαν στη μελέτη, έλαβαν έναν ατομικό κωδικό (ID), στο ειδικά κατασκευασμένο έντυπο, τον οποίο γνωρίζει μόνο η ερευνήτρια και οι επιβλέποντες αυτήν, προκειμένου να αντιστοιχηθούν σωστά τα αποτελέσματα. Δημιουργήθηκε ένα αρχείο τύπου "EXCEL", όπου υπάρχουν τα δεδομένα κωδικοποιημένα, και ένα δεύτερο όπου υπάρχει η αντιστοιχία του κωδικού με το ID. Τα αρχεία τύπου "EXCEL" βρίσκονται στους υπολογιστές της ερευνήτριας και των επιβλεπόντων, έχοντας πρόσβαση μόνο αυτοί μέσω προσωπικών κωδικών.

1.8 Αποτελέσματα

1.8.1 Περιγραφικά χαρακτηριστικά

Στη μελέτη συμμετείχαν 63 παιδιά (33 αγόρια και 30 κορίτσια) μέσης και διάμεσης ηλικίας 7.5 (SD = 4.6) και 8 (3-11) έτη, αντίστοιχα. Τα αγόρια έχουν μέση και διάμεση ηλικία 7 (SD = 4.2) και 7 (4-10) έτη. Τα κορίτσια έχουν μέση και διάμεση ηλικία 8.1 (SD = 5.2) και 8.5 (3-13) έτη. Βάσει του ελέγχου των Mann-Whitney δεν παρατηρήθηκε, στατιστικώς σημαντική, διαφορά στην ηλικιακή κατανομή ανάμεσα στα δύο φύλα [$U(N_{\text{ΑΓΟΡΙΑ}} = 33, N_{\text{ΚΟΡΙΤΣΙΑ}} = 30) = 553.5, z = 0.807, p = 0.420$].

Πίνακας 5. Βασικοί στατιστικοί δείκτες ηλικίας ανά φύλο



		Βιολογικό φύλο		
		Αγόρι	Κορίτσι	Total
Ηλικία	Mean	7.0	8.1	7.5
	Standard Deviation	4.0	5.2	4.6
	Median	7.0	8.5	8.0
	Percentile 25	4.0	3.0	3.0
	Percentile 75	10.0	13.0	11.0

Στους τρεις πίνακες που ακολουθούν, καταγράφονται οι βασικοί στατιστικοί δείκτες των κλινικών χαρακτηριστικών των συμμετεχόντων.

Πίνακας 6. Βασικοί στατιστικοί δείκτες κλινικών χαρακτηριστικών των συμμετεχόντων (συνεχείς μεταβλητές)

	Mean	Standard Deviation	Median	Percentile 25	Percentile 75
Αριθμός κηλίδων (μέγεθος >3 εκ.)	8.2	7.3	6.0	3.0	10.0
Αριθμός κηλίδων (μέγεθος μεταξύ 0.5-3 εκ.)	9.2	6.3	8.0	4.0	12.0
Συνολικός αριθμός κηλίδων	18.1	8.3	17.0	11.0	23.0
Κεφάλι (αριθμός κηλίδων)	1.0	1.4	0.0	0.0	2.0
Θώρακας (αριθμός κηλίδων)	9.7	5.3	8.0	6.0	12.0
Άνω άκρο (αριθμός κηλίδων)	1.6	1.9	1.0	0.0	3.0
Κάτω άκρο (αριθμός κηλίδων)	3.4	2.5	3.0	2.0	5.0
Γεννητική χώρα (αριθμός κηλίδων)	2.4	2.3	2.0	1.0	4.0
Μασχάλες (αριθμός εφελίδων)	0.6	0.5	1.0	0.0	1.0
Βουβωνική χώρα (αριθμός εφελίδων)	0.6	0.5	1.0	0.0	1.0

Πίνακας 7. Βασικοί στατιστικοί δείκτες κλινικών χαρακτηριστικών των συμμετεχόντων (ονομαστικές μεταβλητές)

		Συχνότητα	Ποσοστό
Γονότυπος	A. Nonsense mutation / Frameshit	36	62.1%
	B. Missence mutation / Splicing / In frame	22	37.9%
Οικογενειακό ιστορικό	Όχι	40	63.5%
	Ναι	23	36.5%
Νεανικά Ξανθοκοκκιώματα	No	59	93.7%
	Yes	4	6.3%
Πλεγματοειδή Νευρινώματα	No	45	71.4%
	Yes	18	28.6%
Δυσπλασία σφηνοειδούς οστού	Όχι	61	96.8%
	Ναι	2	3.2%
Ψευδάρθρωση	Όχι	60	95.2%
	Ναι	3	4.8%
Σκολίωση	Όχι	56	88.9%
	Ναι	7	11.1%
ΚΝΣ	Τίποτα/ κ.φ.	42	66.7%
	Επιληψία	2	3.2%
	Νοητική υστέρηση	0	0.0%
	Μαθησιακές δυσκολίες	17	27.0%
	Αυτισμός	2	3.2%
Οπτικό νεύρο	Τίποτα	45	71.4%
	Γλοίωμα	15	23.8%
	Άλλοι όγκοι	0	0.0%
	Ατροφία	3	4.8%
Γλοίωμα	Τίποτα	46	73.0%
	Χίασμα	7	11.1%
	Μονόπλευρα	0	0.0%
	Ετερόπλευρα	10	15.9%
Οζίδια Lisch	Όχι	46	78.0%
	Ναι	13	22.0%

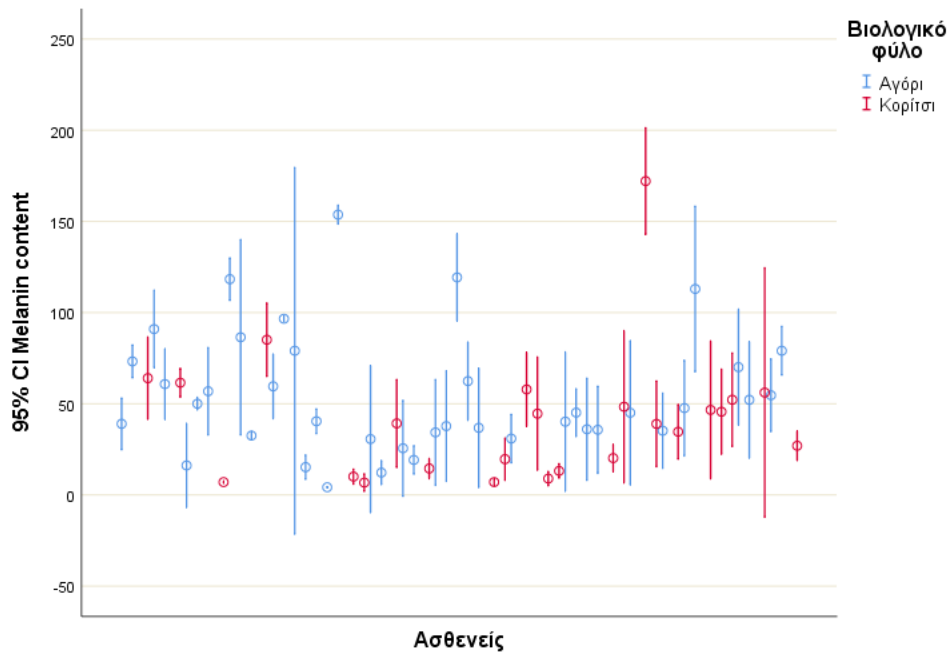
Πίνακας 8. Κατανομή CALMs και δερματικών/ υποδόριων νευρινωμάτων στο σώμα

	CALMs		Plexiform neurofibromas	
	N	N%	N	N%
Κεφάλι	61	5.4%	9	5.8%
Θώρακας	610	53.6%	45	29.2%
Άνω άκρο	103	9.1%	25	16.2%
Κάτω άκρο	212	18.6%	38	24.7%
Γεννητική περιοχή	152	13.4%	37	24.0%
ΣΥΝΟΛΟ	1138	100.0 %	154	100%

1.8.2 Ερευνητικά ερωτήματα

1.8.2.1 Υπάρχει ομοιογένεια στη διακύμανση της ποσότητας μελανίνης κάθε ασθενή (within test):

Ο έλεγχος της υπόθεσης της ομοσκεδαστικότητας του Levene έδειξε ότι τόσο στα κορίτσια [F (38, 195) = 8.653, $p < 0.001$] όσο και στα αγόρια [F (23, 120) = 14.284, $p < 0.001$] δεν υπάρχει ομοιογένεια στη διακύμανση της ποσότητας μελανίνης.



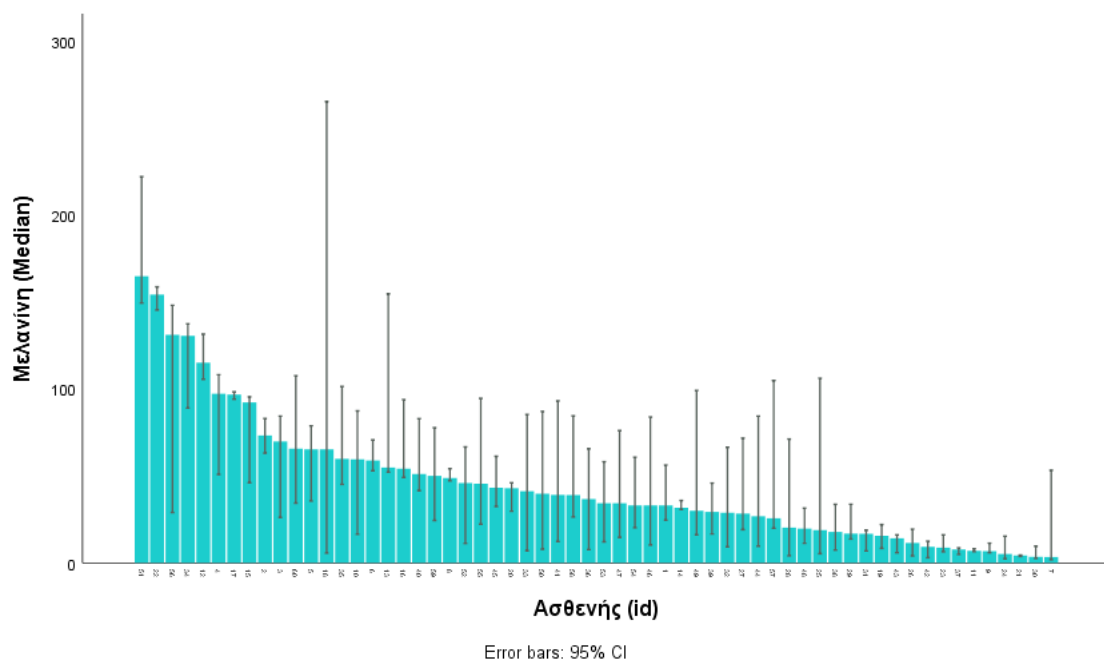
Γράφημα 2. Διάγραμμα σφαλμάτων (error bar) της ποσότητας μελανίνης ανά ασθενή

1.8.2.2 Υπάρχει διαφορά στη διάμεση τιμή της ποσότητας μελανίνης, μεταξύ των ασθενών (between test):

Η δοκιμασία Shapiro-Wilk ($p < 0.001$) και η μελέτη των γραφικών παραστάσεων «Normal Q-Q plot», «Detrended Normal Q-Q plot», και «Box Plot», έδειξαν ότι τα δεδομένα της διάμεσης τιμής της ποσότητας μελανίνης, κάθε ασθενή, δεν προέρχονται από την κανονική κατανομή. Ως εκ τούτου, για τη διερεύνηση της διαφοράς στη διάμεση τιμή της ποσότητας μελανίνης, μεταξύ των ασθενών (between), έγινε χρήση του Mood's median test.

Το αποτέλεσμα της στατιστικής δοκιμασίας αποκάλυψε ότι διαφέρει, στατιστικώς σημαντικά, η διάμεση τιμή της ποσότητας μελανίνης μεταξύ (between) των ασθενών [$\chi^2(62) = 208, p < 0.001$], συνολικά.

Μελετώντας το ίδιο ερώτημα κατά φύλο βρέθηκε ότι η διάμεση τιμή της ποσότητας μελανίνης διαφέρει, στατιστικώς σημαντικά, τόσο μεταξύ (between) των κοριτσιών [$\chi^2(29) = 121.3, p < 0.001$] όσο και των αγοριών [$\chi^2(32) = 96.0, p < 0.001$].



Γράφημα 3. Ιστόγραμμα (histogram) διάμεσης τιμής της ποσότητας μελανίνης, ανά ασθενή, κατά φθίνουσα τιμή

1.8.2.3 Σχετίζεται η διάμεση τιμή της ποσότητας μελανίνης των CALMs κάθε ασθενή με τον γονότυπό του:

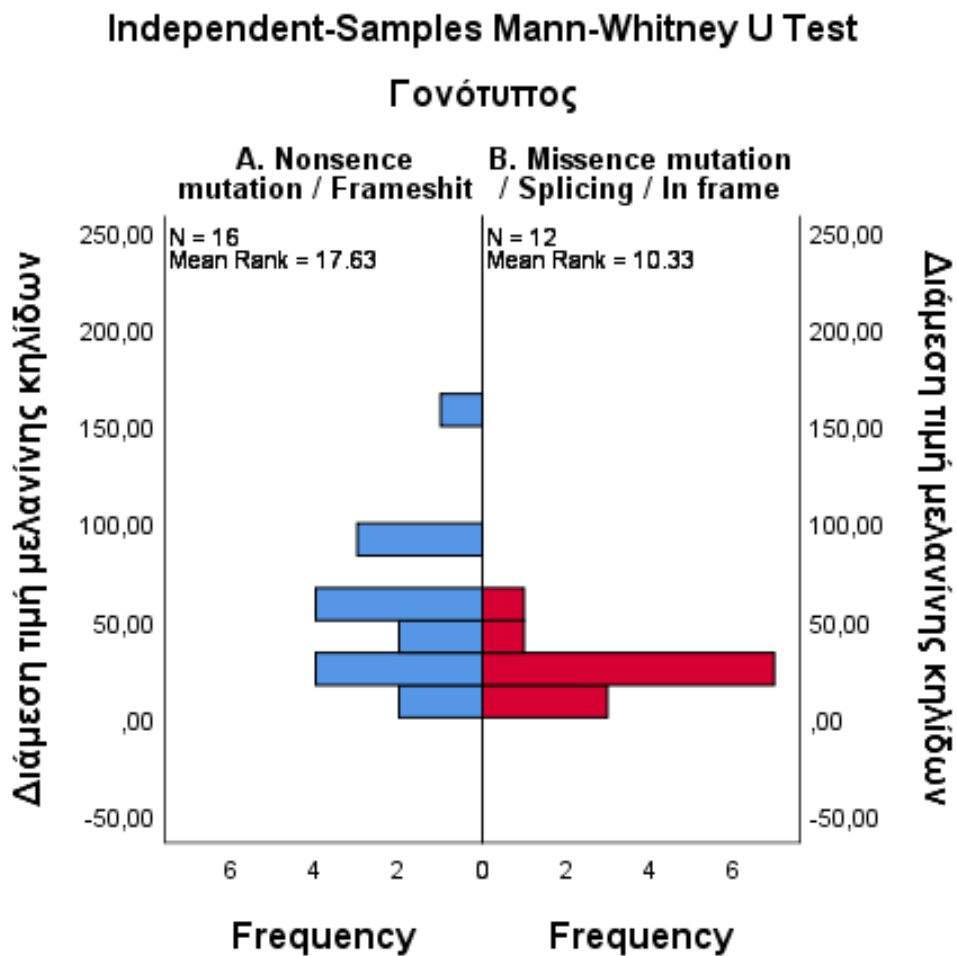
Η δοκιμασία Shapiro-Wilk ($p < 0.001$) και η μελέτη των γραφικών παραστάσεων «Normal Q-Q plot», «Detrended Normal Q-Q plot», και «Box Plot», έδειξαν ότι τα δεδομένα της διάμεσης τιμής της ποσότητας μελανίνης κάθε ασθενή, ανά ομάδα γονότυπου, δεν προέρχονται από την κανονική κατανομή. Ως εκ τούτου, για τη διερεύνηση της σχέσης ανάμεσα στη διάμεση τιμή της ποσότητας μελανίνης των CALMs κάθε ασθενή με τον γονότυπό του έγινε χρήση του ελέγχου των Mann-Whitney.

Στον πίνακα που ακολουθεί καταγράφονται οι βασικοί στατιστικοί δείκτες της διάμεσης τιμής της ποσότητας μελανίνης των CALMs κάθε ασθενή ανά ομάδα γονότυπου.

Πίνακας 9. Βασικοί στατιστικοί δείκτες της διάμεσης τιμής της ποσότητας μελανίνης των CALMs κάθε ασθενή, ανά ομάδα γονότυπου

		Γονότυπος	
		A. Nonsense mutation / Frameshit	B. Missence mutation / Splicing / In frame
Διάμεση τιμή μελανίνης κηλίδων	Mean	54.1	24.5
	Standard Deviation	41.2	15.1
	Median	44.6	18.3
	Percentile 25	27.8	15.5
	Percentile 75	75.9	32.4

Βάσει του ελέγχου των Mann-Whitney παρατηρήθηκε, στατιστικώς πολύ σημαντική, διαφορά στη διάμεση τιμή της ποσότητας μελανίνης των CALMs κάθε ασθενή ανάμεσα στις δύο ομάδες γονοτύπων [$U(N_A = 16, N_B = 12) = 124, z = -2.321, p = 0.02$]. Συγκεκριμένα, η ομάδα A (Nonsense mutation / Frameshit) καταγράφει υψηλότερα επίπεδα μελανίνης σε σχέση με την ομάδα B (Missence mutation / Splicing / In frame).



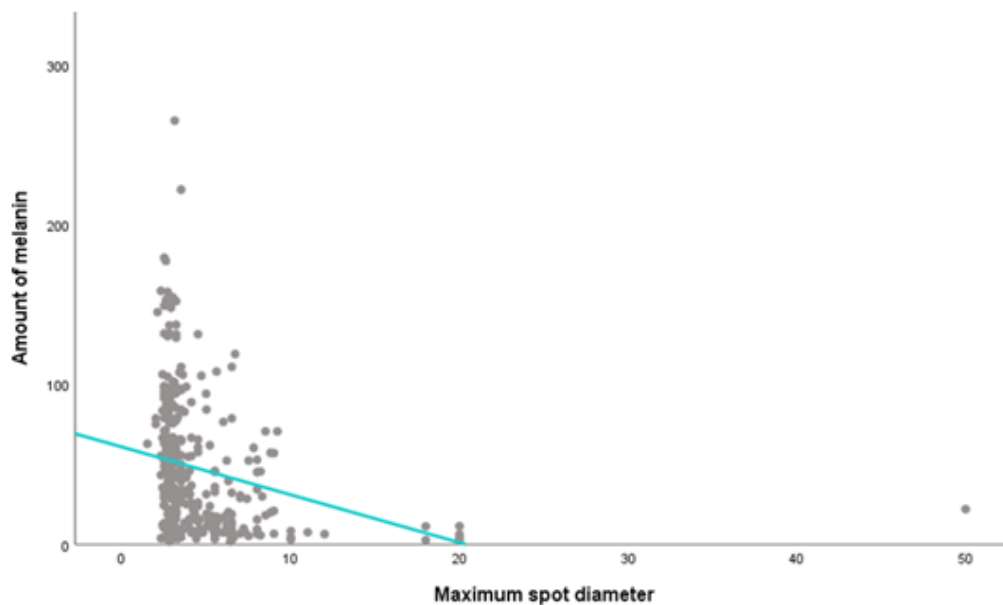
1.8.2.4 Σχετίζεται το μέγεθος της κηλίδας με την ποσότητα της μελανίνης:

Η δοκιμασία Shapiro-Wilk και η μελέτη των γραφικών παραστάσεων «Normal Q-Q plot», «Detrended Normal Q-Q plot», και «Box Plot», έδειξαν ότι δεν μπορεί να υποστηριχτεί η υπόθεση της κανονικότητας των συνεχών μεταβλητών «Μέγεθος κηλίδας» ($p < 0.001$) και «Ποσότητα μελανίνης» ($p < 0.001$). Ως εκ τούτου, για την μελέτη της μεταξύ τους σχέσης έγινε χρήση του δείκτη συσχέτισης Spearman. Όπως παρατηρείται από τον επόμενο πίνακα, τα δεδομένα συνηγορούν στο γεγονός ότι το μέγεθος της κηλίδας σχετίζεται, στατιστικώς πολύ ισχυρά, με την ποσότητα της μελανίνης ($r_s(378) = -0.403, p < 0.001$). Συγκεκριμένα, μεγαλύτερο μέγεθος κηλίδας αντιστοιχεί σε μικρότερη ποσότητα μελανίνης.

Πίνακας 10. Έλεγχος συσχέτισης μεγέθους κηλίδας και ποσότητας μελανίνης

			Μέγιστη διάμετρος κηλίδας	Melanin content
Spearman's rho	Μέγιστη διάμετρος κηλίδας	Correlation	1.000	-.403**
		Coefficient		
		Sig. (2-tailed)	.	.000
		N	378	378
	Melanin content	Correlation	-.403**	1.000
		Coefficient		
		Sig. (2-tailed)	.000	.
		N	378	378

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).



Γράφημα 5. Στικρόγραμμα (scatter plot) μεγέθους κηλίδας και ποσότητας μελανίνης

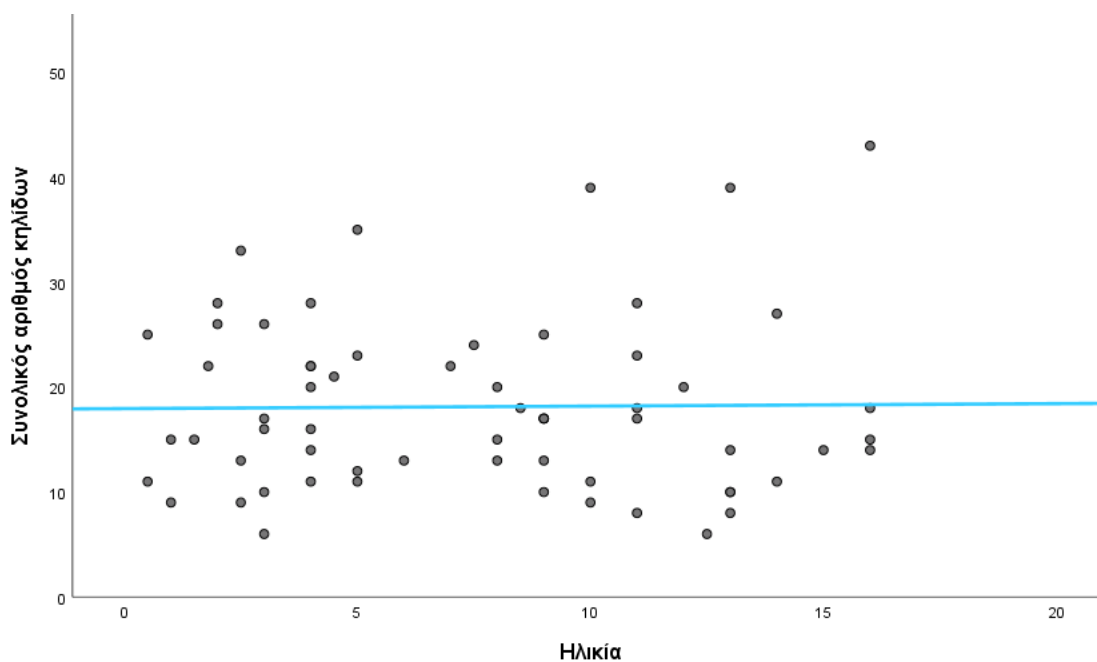
1.8.2.5 Σχετίζεται ο αριθμός των κηλίδων με την ηλικία:

Η δοκιμασία Shapiro-Wilk και η μελέτη των γραφικών παραστάσεων «Normal Q-Q plot», «Detrended Normal Q-Q plot», και «Box Plot», έδειξαν ότι δεν μπορεί να υποστηριχτεί η υπόθεση της κανονικότητας των συνεχών μεταβλητών «Αριθμός κηλίδων» ($p < 0.001$) και «Ηλικία» ($p = 0.002$). Ως εκ τούτου, για την μελέτη της μεταξύ τους σχέσης έγινε χρήση του δείκτη συσχέτισης Spearman.

Όπως παρατηρείται από τον επόμενο πίνακα, τα δεδομένα συνηγορούν στο γεγονός ότι ο συνολικός αριθμός των κηλίδων δεν σχετίζεται, στατιστικώς σημαντικά, με την ηλικία ($r_s(63) = -0.055$, $p = 0.666$).

Πίνακας 11. Έλεγχος συσχέτισης συνολικού αριθμού κηλίδων και ηλικίας

			Συνολικός αριθμός κηλίδων	Ηλικία
Spearman's rho	Συνολικός αριθμός κηλίδων	Correlation Coefficient	1.000	-.055
		Sig. (2-tailed)	.	.666
		N	63	63
	Ηλικία	Correlation Coefficient	-.055	1.000
		Sig. (2-tailed)	.666	.
		N	63	63



Γράφημα 6. Στικρόγραμμα (scatter plot) συνολικού αριθμού κηλίδων και ηλικίας

1.8.2.6 Σχετίζεται ο αριθμός των κηλίδων με το φύλο:

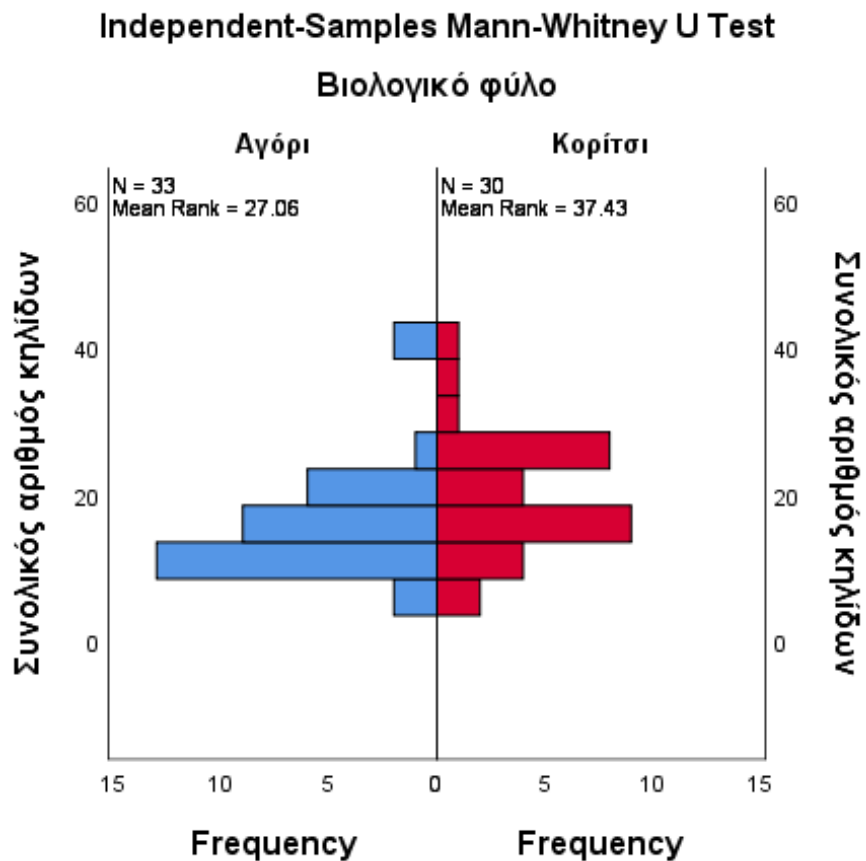
Η δοκιμασία Shapiro-Wilk ($p < 0.001$) και η μελέτη των γραφικών παραστάσεων «Normal Q-Q plot», «Detrended Normal Q-Q plot», και «Box Plot», έδειξαν ότι τα δεδομένα του συνολικού αριθμού κηλίδων, στα αγόρια, δεν προέρχονται από την κανονική κατανομή. Ως εκ τούτου, για τη διερεύνηση της σχέσης ανάμεσα στον συνολικό αριθμό κηλίδων και το φύλο έγινε χρήση του ελέγχου των Mann-Whitney.

Στον πίνακα που ακολουθεί καταγράφονται οι βασικοί στατιστικοί δείκτες του συνολικού αριθμού κηλίδων ανά φύλο.

Πίνακας 12. Βασικοί στατιστικοί δείκτες του συνολικού αριθμού κηλίδων ανά φύλο

		Βιολογικό φύλο	
		Αγόρι	Κορίτσι
Συνολικός αριθμός κηλίδων	Mean	16.2	20.2
	Standard Deviation	8.0	8.2
	Median	15.0	19.0
	Percentile 25	11.0	14.0
	Percentile 75	20.0	26.0

Βάσει του ελέγχου των Mann-Whitney παρατηρήθηκε, στατιστικώς πολύ σημαντική, διαφορά στον συνολικό αριθμό κηλίδων και το φύλο [$U(N_{ΑΓΟΡΙΑ} = 33, N_{ΚΟΡΙΤΣΙΑ} = 30) = 658, z = 2.246, p = 0.025$]. Συγκεκριμένα, τα κορίτσια καταγράφουν μεγαλύτερο συνολικό αριθμό κηλίδων σε σχέση με τα αγόρια.



Γράφημα 7. Γράφημα συχνότητας του συνολικού αριθμού κηλίδων ανά φύλο

1.8.2.7 Σχετίζεται ο αριθμός των κηλίδων με το οικογενειακό ιστορικό:

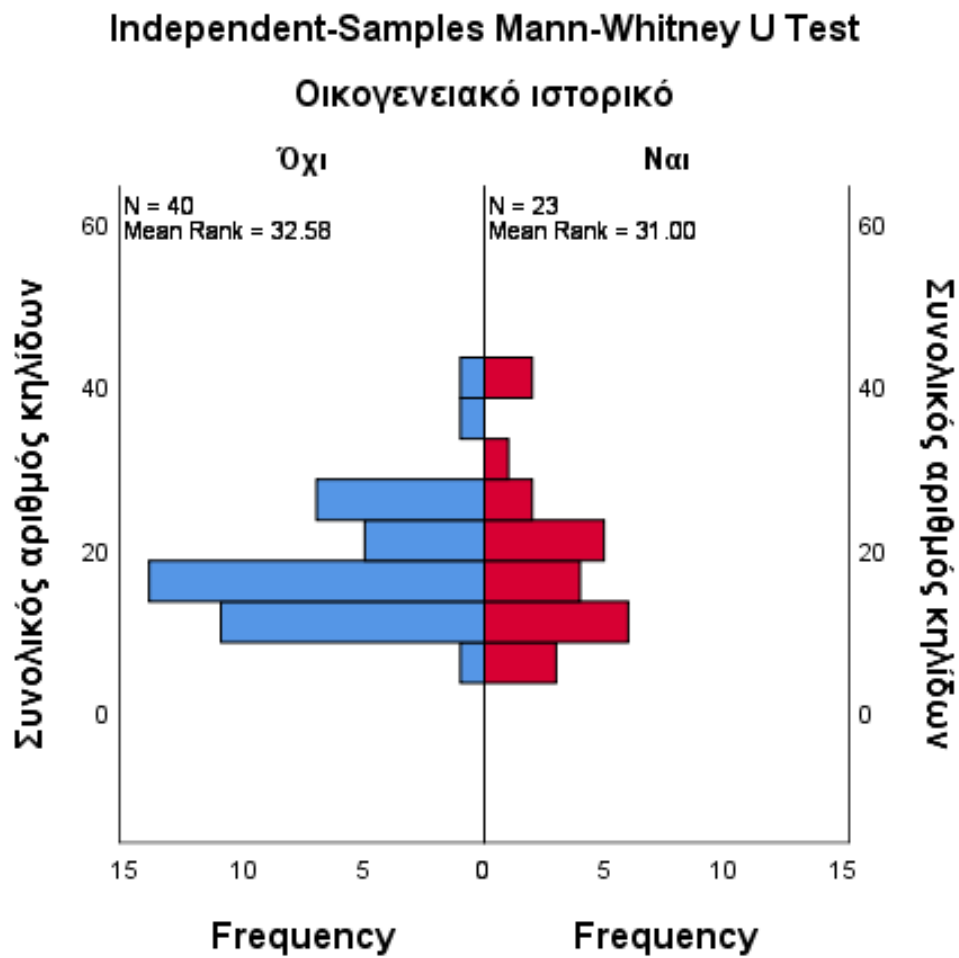
Η δοκιμασία Shapiro-Wilk και η μελέτη των γραφικών παραστάσεων «Normal Q-Q plot», «Detrended Normal Q-Q plot», και «Box Plot», έδειξαν ότι τα δεδομένα του συνολικού αριθμού κηλίδων, τόσο στα παιδιά χωρίς οικογενειακό ιστορικό κηλίδων ($p = 0.009$) όσο και στα παιδιά με οικογενειακό ιστορικό ($p = 0.035$), δεν προέρχονται από την κανονική κατανομή. Ως εκ τούτου, για τη διερεύνηση της σχέσης ανάμεσα στον συνολικό αριθμό κηλίδων και το οικογενειακό ιστορικό έγινε χρήση του ελέγχου των Mann-Whitney.

Στον πίνακα που ακολουθεί καταγράφονται οι βασικοί στατιστικοί δείκτες του συνολικού αριθμού κηλίδων ανά κατηγορία οικογενειακού ιστορικού κηλίδων.

Πίνακας 13. Βασικοί στατιστικοί δείκτες του συνολικού αριθμού κηλίδων ανά κατηγορία οικογενειακού ιστορικού κηλίδων

		Οικογενειακό ιστορικό	
		Όχι	Ναι
Συνολικός αριθμός κηλίδων	Mean	18.0	18.4
	Standard Deviation	7.3	10.0
	Median	16.5	17.0
	Percentile 25	13.0	10.0
	Percentile 75	22.5	23.0

Βάσει του ελέγχου των Mann-Whitney δεν παρατηρήθηκε, στατιστικώς σημαντική, διαφορά στον συνολικό αριθμό κηλίδων και το οικογενειακό ιστορικό [$U(N_{\text{Ναι}} = 23, N_{\text{Όχι}} = 40) = 437, z = -0.329, p = 0.742$].



Γράφημα 8. Γράφημα συχνότητας του συνολικού αριθμού κηλίδων ανά κατηγορία οικογενειακού ιστορικού κηλίδων

1.8.2.8 Σχετίζεται ο αριθμός των κηλίδων με την ύπαρξη JXG;

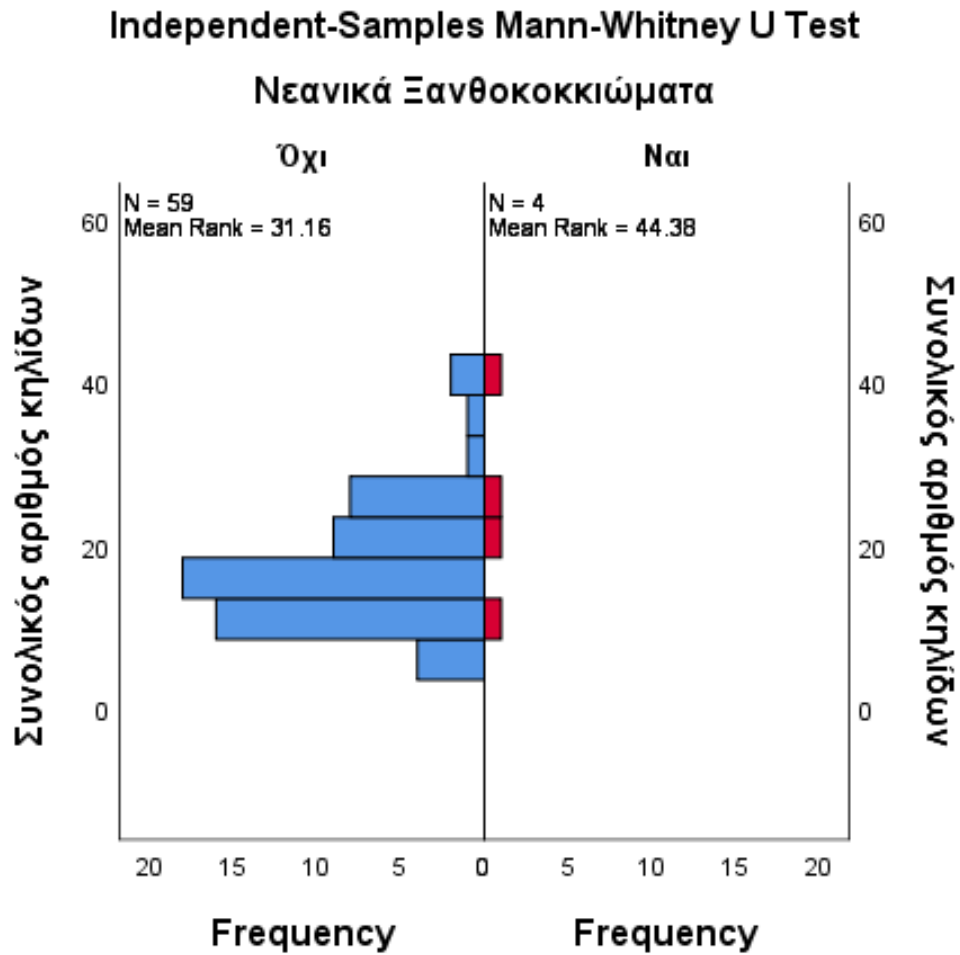
Η δοκιμασία Shapiro-Wilk και η μελέτη των γραφικών παραστάσεων «Normal Q-Q plot», «Detrended Normal Q-Q plot», και «Box Plot» έδειξαν ότι τα δεδομένα του συνολικού αριθμού κηλίδων στα παιδιά χωρίς JXG ($p = 0.001$) δεν προέρχονται από την κανονική κατανομή. Ως εκ τούτου, για τη διερεύνηση της σχέσης ανάμεσα στον συνολικό αριθμό κηλίδων και την ύπαρξη JXG έγινε χρήση του ελέγχου των Mann-Whitney.

Στον πίνακα που ακολουθεί καταγράφονται οι βασικοί στατιστικοί δείκτες του συνολικού αριθμού κηλίδων ανά κατηγορία ύπαρξης JXG.

Πίνακας 14. Βασικοί στατιστικοί δείκτες του συνολικού αριθμού κηλίδων ανά κατηγορία ύπαρξης JXG

		Νεανικά Ξανθοκοκκιώματα	
		Όχι	Ναι
Συνολικός αριθμός κηλίδων	Mean	17.7	24.8
	Standard Deviation	8.0	10.9
	Median	16.0	23.5
	Percentile 25	11.0	17.0
	Percentile 75	22.0	32.5

Βάσει του ελέγχου των Mann-Whitney δεν παρατηρήθηκε, στατιστικώς σημαντική, διαφορά στον συνολικό αριθμό κηλίδων και την ύπαρξη JXG [$U(N_{\text{ΝΑΙ}} = 4, N_{\text{ΟΧΙ}} = 59) = 63, z = 167.5, p = 0.169$].



Γράφημα 9. Γράφημα συχνότητας του συνολικού αριθμού κηλίδων ανά κατηγορία ύπαρξης JXG

1.8.2.9 Σχετίζεται ο αριθμός των κηλίδων με την ύπαρξη ΠΝ;

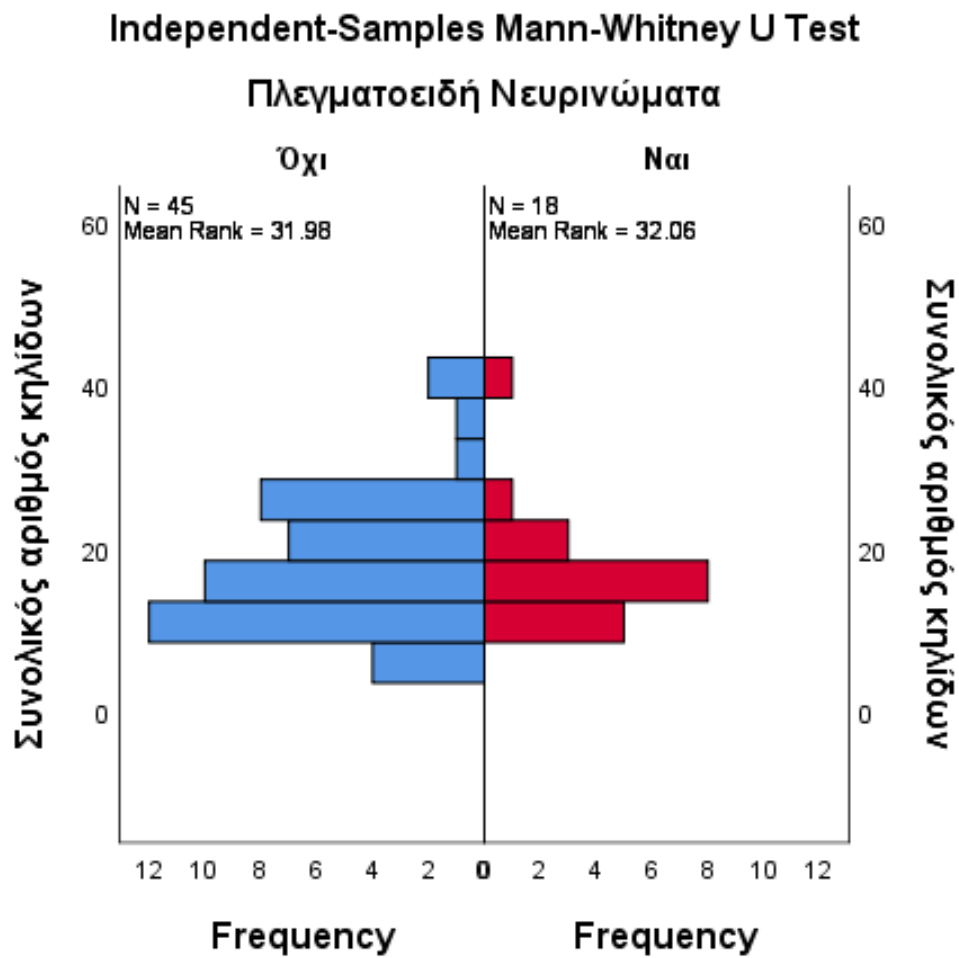
Η δοκιμασία Shapiro-Wilk και η μελέτη των γραφικών παραστάσεων «Normal Q-Q plot», «Detrended Normal Q-Q plot», και «Box Plot» έδειξαν ότι τα δεδομένα του συνολικού αριθμού κηλίδων, τόσο στα παιδιά χωρίς ΠΝ ($p = 0.008$) όσο και στα παιδιά με πλεγματοειδή νευρινώματα ($p = 0.001$), δεν προέρχονται από την κανονική κατανομή. Ως εκ τούτου, για τη διερεύνηση της σχέσης ανάμεσα στον συνολικό αριθμό κηλίδων και την ύπαρξη ΠΝ έγινε χρήση του ελέγχου των Mann-Whitney.

Στον πίνακα που ακολουθεί καταγράφονται οι βασικοί στατιστικοί δείκτες του συνολικού αριθμού κηλίδων ανά κατηγορία ύπαρξης πλεγματοειδών ΠΝ.

Πίνακας 15. Βασικοί στατιστικοί δείκτες του συνολικού αριθμού κηλίδων ανά κατηγορία ύπαρξης πλεγματοειδών νευρινωμάτων

		Πλεγματοειδή Νευρινώματα	
		Όχι	Ναι
Συνολικός αριθμός κηλίδων	Mean	18.3	17.8
	Standard Deviation	8.6	7.6
	Median	16.0	17.0
	Percentile 25	11.0	13.0
	Percentile 75	24.0	20.0

Βάσει του ελέγχου των Mann-Whitney δεν παρατηρήθηκε, στατιστικώς σημαντική, διαφορά στον συνολικό αριθμό κηλίδων και την ύπαρξη ΠΝ [$U(N_{\text{ΝΑΙ}} = 18, N_{\text{ΟΧΙ}} = 45) = 406, z = 0.015, p = 0.988$].



Γράφημα 10. Γράφημα συχνότητας του συνολικού αριθμού κηλίδων ανά κατηγορία ύπαρξης ΠΝ

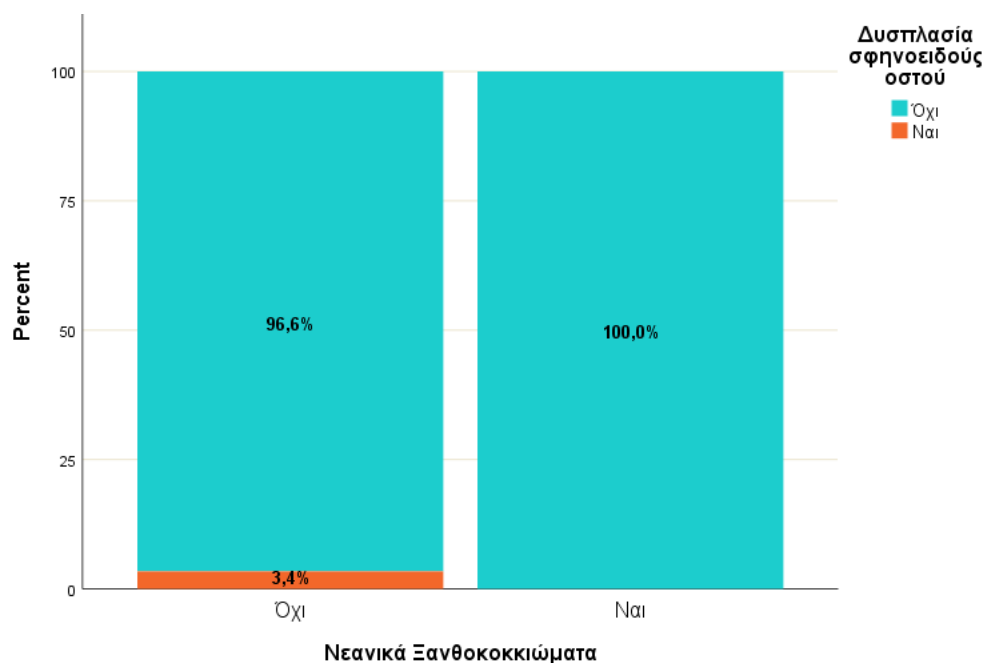
1.8.2.10 Σχετίζεται η δυσπλασία σφηνοειδούς οστού με την ύπαρξη JXG ή ΠΝ;

Στον πίνακα που ακολουθεί περιγράφονται τα δεδομένα, σχετικά με τη δυσπλασία σφηνοειδούς οστού και την ύπαρξη JXG.

Πίνακας 16. Πίνακας συνάφειας δυσπλασίας σφηνοειδούς οστού και ύπαρξης νεανικού ξανθοκοκκιώματος

		Δυσπλασία σφηνοειδούς οστού		Total
		Όχι	Ναι	
Νεανικά Ξανθοκοκκιώματα	Όχι	57	2	59
	Ναι	4	0	4
Total		61	2	63

Το αποτέλεσμα του ακριβούς ελέγχου του Fisher (Fisher's Exact Test) δεν αποκάλυψε στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της δυσπλασίας σφηνοειδούς οστού και της ύπαρξης JXG [$p = 1.000$].



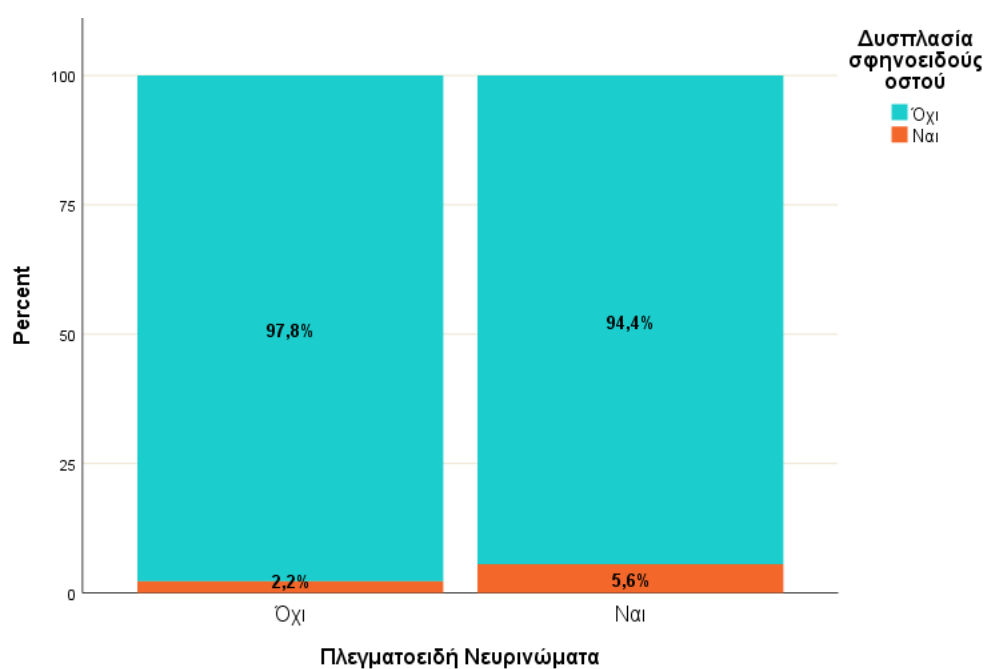
Γράφημα 11. Ραβδόγραμμα (bar chart) σχέσης μεταξύ της δυσπλασία σφηνοειδούς οστού και της ύπαρξης JXG

Στον πίνακα που ακολουθεί περιγράφονται τα δεδομένα, σχετικά με τη δυσπλασία σφηνοειδούς οστού και την ύπαρξη ΠΝ.

Πίνακας 17. Πίνακας συνάφειας δυσπλασίας σφηνοειδούς οστού και ύπαρξης ΠΝ

		Δυσπλασία σφηνοειδούς οστού		Total
		Όχι	Ναι	
Πλεγματοειδή Νευρινώματα	Όχι	44	1	45
	Ναι	17	1	18
Total		61	2	63

Το αποτέλεσμα του ακριβούς ελέγχου του Fisher (Fisher's Exact Test) δεν αποκάλυψε στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της δυσπλασίας σφηνοειδούς οστού και της ύπαρξης ΠΝ [$p = 0.493$].



Γράφημα 12. Ραβδόγραμμα (bar chart) σχέσης μεταξύ της δυσπλασίας σφηνοειδούς οστού και της ύπαρξης ΠΝ

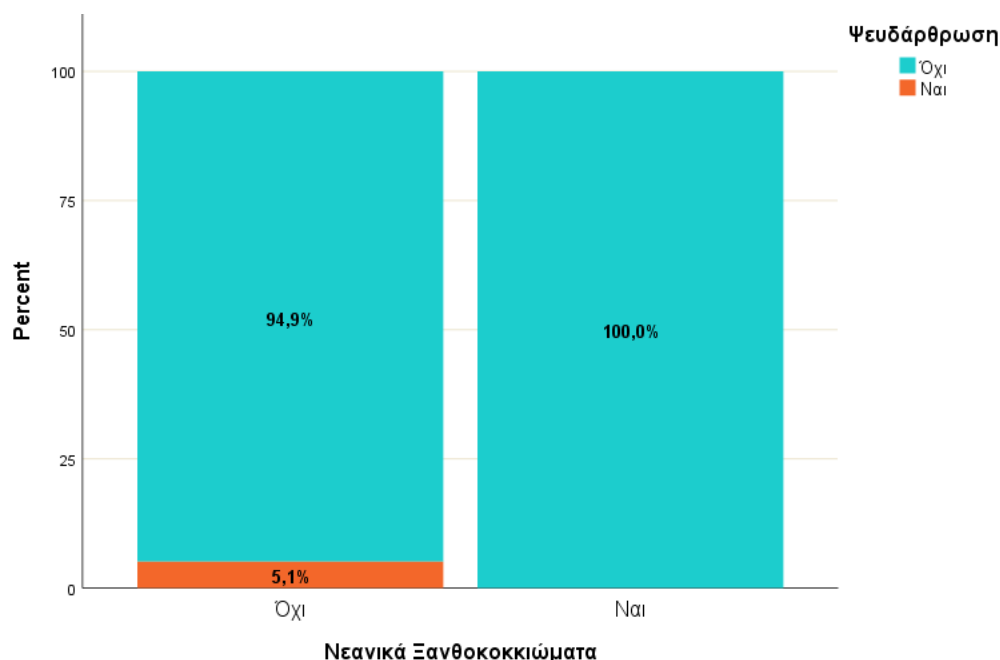
1.8.2.11 Σχετίζεται η ψευδάρθρωση με την ύπαρξη JXG ή ΠΝ;

Στον πίνακα που ακολουθεί περιγράφονται τα δεδομένα, σχετικά με την ψευδάρθρωση και την ύπαρξη JXG.

Πίνακας 18. Πίνακας συνάφειας ψευδάρθρωσης και ύπαρξης JXG

		Ψευδάρθρωση		Total
		Όχι	Ναι	
Νεανικά Ξανθοκοκκιώματα	Όχι	56	3	59
	Ναι	4	0	4
Total		60	3	63

Το αποτέλεσμα του ακριβούς ελέγχου του Fisher (Fisher's Exact Test) δεν αποκάλυψε στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της ψευδάρθρωσης και της ύπαρξης JXG [$p = 1.000$].



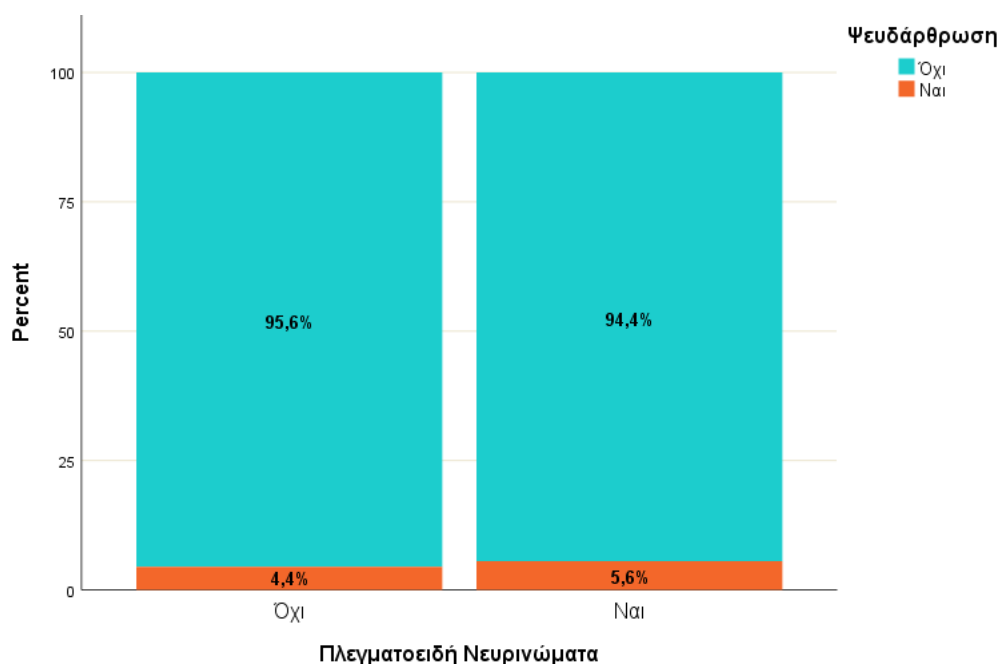
Γράφημα 13. Ραβδόγραμμα (bar chart) σχέσης μεταξύ της ψευδάρθρωσης και της ύπαρξης JXG

Στον πίνακα που ακολουθεί περιγράφονται τα δεδομένα, σχετικά με την ψευδάρθρωση και την ύπαρξη ΠΝ.

Πίνακας 19. Πίνακας συνάφειας ψευδάρθρωσης και ύπαρξης ΠΝ

		Ψευδάρθρωση		Total
		Όχι	Ναι	
Πλεγματοειδή Νευρινώματα	Όχι	43	2	45
	Ναι	17	1	18
Total		60	3	63

Το αποτέλεσμα του ακριβούς ελέγχου του Fisher (Fisher's Exact Test) δεν αποκάλυψε στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της ψευδάρθρωσης και της ύπαρξης ΠΝ [$p = 1.000$].



Γράφημα 14. Ραβδόγραμμα (bar chart) σχέσης μεταξύ της ψευδάρθρωσης και της ύπαρξης ΠΝ

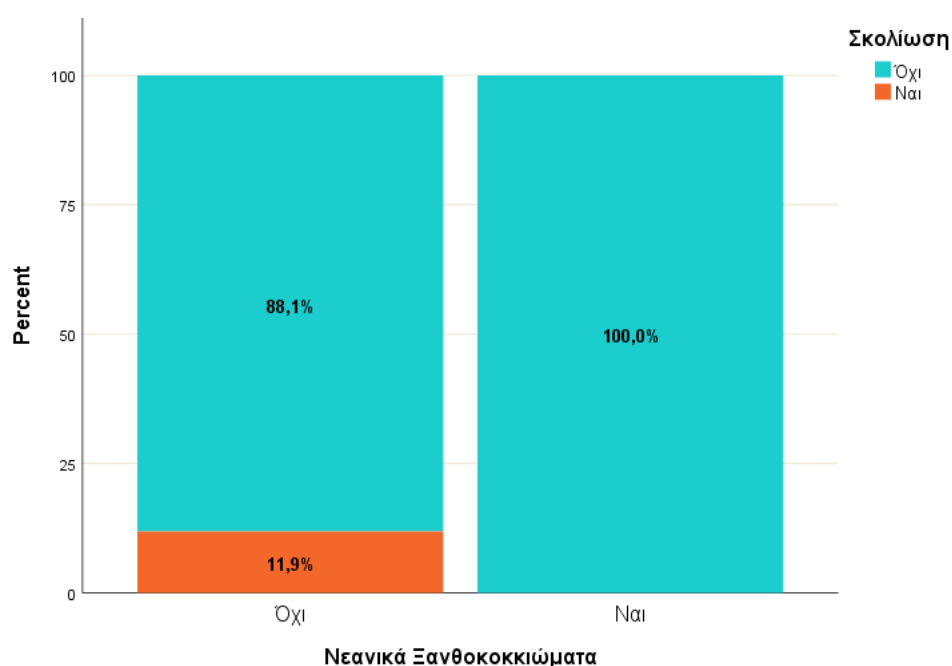
1.8.2.12 Σχετίζεται η σκολίωση με την ύπαρξη JXG ή ΠΝ;

Στον πίνακα που ακολουθεί περιγράφονται τα δεδομένα, σχετικά με την σκολίωση και την ύπαρξη JXG.

Πίνακας 20. Πίνακας συνάφειας σκολίωσης και ύπαρξης νεανικού ξανθοκοκκιώματος

		Σκολίωση		Total
		Όχι	Ναι	
Νεανικά Ξανθοκοκκιώματα	Όχι	52	7	59
	Ναι	4	0	4
Total		56	7	63

Το αποτέλεσμα του ακριβούς ελέγχου του Fisher (Fisher's Exact Test) δεν αποκάλυψε στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της σκολίωσης και της ύπαρξης JXG [$p = 1.000$].



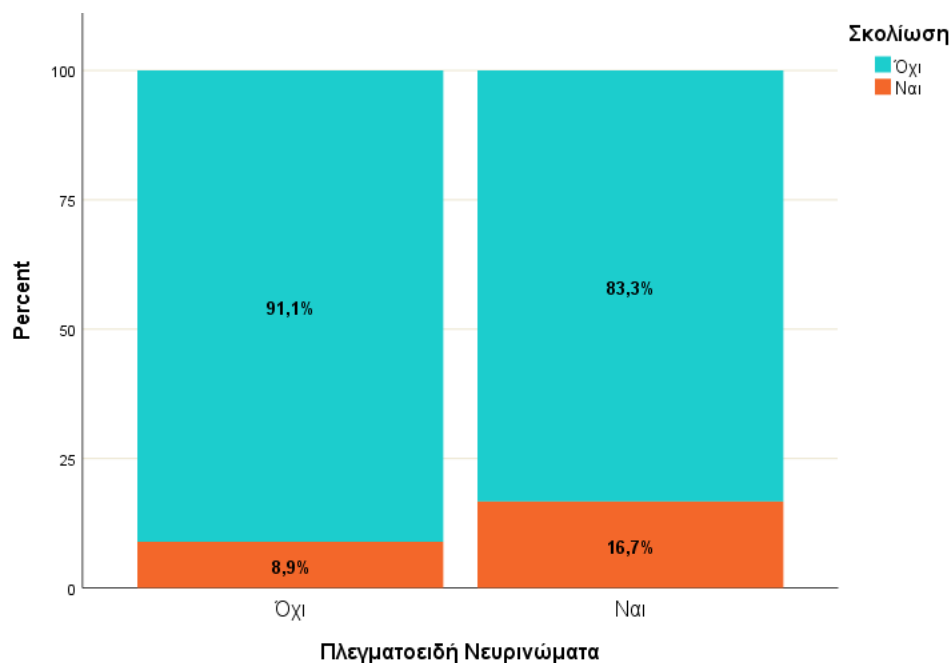
Γράφημα 15. Ραβδόγραμμα (bar chart) σχέσης μεταξύ της σκολίωσης και της ύπαρξης JXG

Στον πίνακα που ακολουθεί περιγράφονται τα δεδομένα, σχετικά με την σκολίωση και την ύπαρξη ΠΝ.

Πίνακας 21. Πίνακας συνάφειας σκολίωσης και ύπαρξης ΠΝ

		Σκολίωση		Total
		Όχι	Ναι	
Πλεγματοειδή Νευρινώματα	Όχι	41	4	45
	Ναι	15	3	18
Total		56	7	63

Το αποτέλεσμα του ακριβούς ελέγχου του Fisher (Fisher's Exact Test) δεν αποκάλυψε στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της σκολίωσης και της ύπαρξης ΠΝ [$p = 0.397$].



Γράφημα 16. Ραβδόγραμμα (bar chart) σχέσης μεταξύ της σκολίωσης και της ύπαρξης ΠΝ

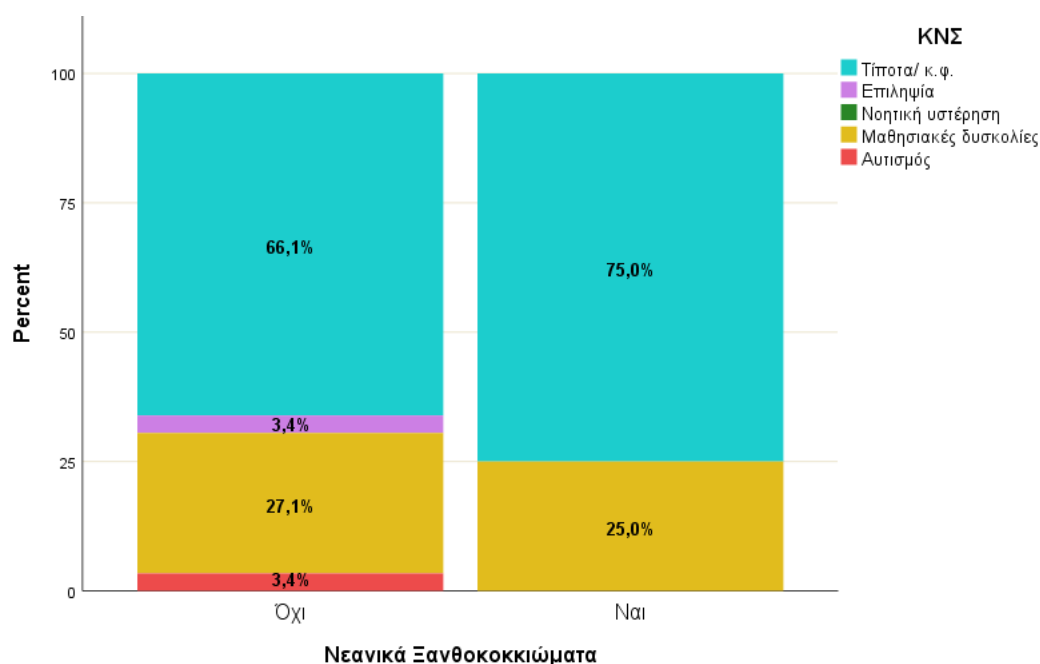
1.8.2.13 Σχετίζεται το παθολογικό ιστορικό του ΚΝΣ με την ύπαρξη νεανικού ξανθοκοκκιώματος ή ΠΝ:

Στον πίνακα που ακολουθεί περιγράφονται τα δεδομένα, σχετικά με το παθολογικό ιστορικό του ΚΝΣ και την ύπαρξη νεανικού ξανθοκοκκιώματος.

Πίνακας 22. Πίνακας συνάφειας παθολογικού ιστορικού του ΚΝΣ και ύπαρξης νεανικού ξανθοκοκκιώματος

		ΚΝΣ				Total
		Τίποτα/ κ.φ.	Επιληψ ία	Μαθησιακ ές δυσκολίες	Αυτισμ ός	
Νεανικά Ξανθοκοκκιώματα	Όχι	39	2	16	2	59
	Ναι	3	0	1	0	4
Total		42	2	17	2	63

Το αποτέλεσμα του ακριβούς ελέγχου του Fisher (Fisher's Exact Test) δεν αποκάλυψε στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ του παθολογικού ιστορικού του ΚΝΣ και της ύπαρξης JXG [$p = 1.000$].

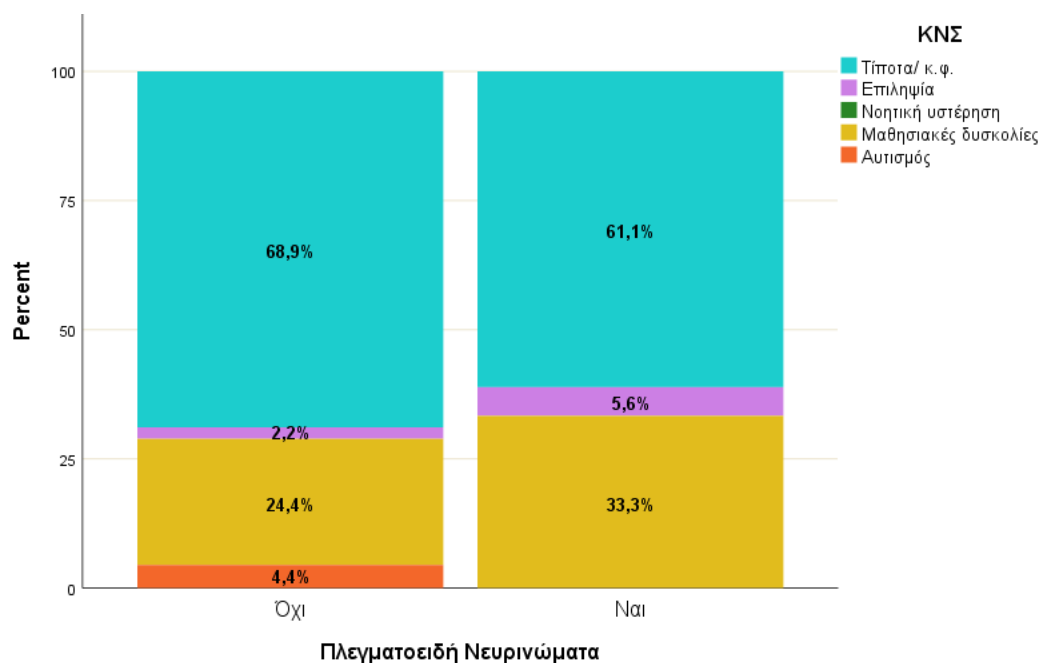


Στον πίνακα που ακολουθεί περιγράφονται τα δεδομένα, σχετικά με το παθολογικό ιστορικό του ΚΝΣ και την ύπαρξη ΠΝ

Πίνακας 23. Πίνακας συνάφειας παθολογικού ιστορικού του ΚΝΣ και ύπαρξης ΠΝ

		ΚΝΣ				Total
		Τίποτα/ κ.φ.	Επιληψία	Μαθησιακές δυσκολίες	Αυτισμός	
Πλεγματοειδή Νευρινώματα	Όχι	31	1	11	2	45
	Ναι	11	1	6	0	18
Total		42	2	17	2	63

Το αποτέλεσμα του ακριβούς ελέγχου του Fisher (Fisher's Exact Test) δεν αποκάλυψε στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ του παθολογικού ιστορικού του ΚΝΣ και της ύπαρξης ΠΝ [$p = 0.638$].



Γράφημα 18. Ραβδόγραμμα (bar chart) σχέσης μεταξύ του παθολογικού ιστορικού του ΚΝΣ και της ύπαρξης ΠΝ

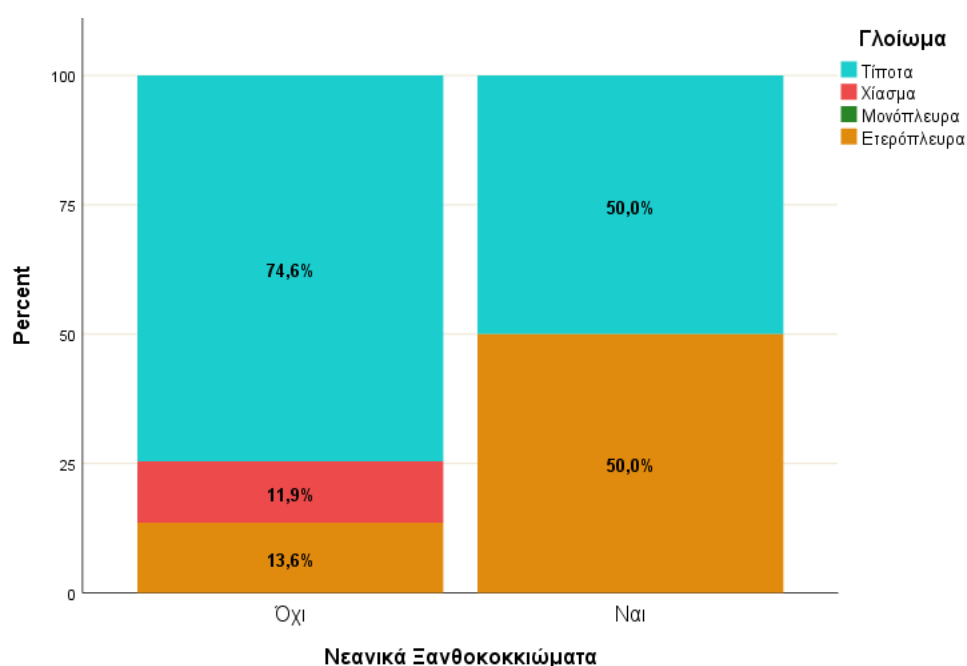
1.8.2.14 Σχετίζεται το γλοίωμα με την ύπαρξη JXG ή ΠΝ;

Στον πίνακα που ακολουθεί περιγράφονται τα δεδομένα, σχετικά με γλοίωμα και την ύπαρξη JXG.

Πίνακας 24. Πίνακας συνάφειας γλοιώματος και ύπαρξης νεανικού ξανθοκοκκιώματος

		Γλοίωμα			Total
		Τίποτα	Χίασμα	Ετερόπλευρα	
Νεανικά Ξανθοκοκκιώματα	Όχι	44	7	8	59
	Ναι	2	0	2	4
Total		46	7	10	63

Το αποτέλεσμα του ακριβούς ελέγχου του Fisher (Fisher's Exact Test) δεν αποκάλυψε στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ του γλοιώματος και της ύπαρξης JXG [$p = 0.171$].



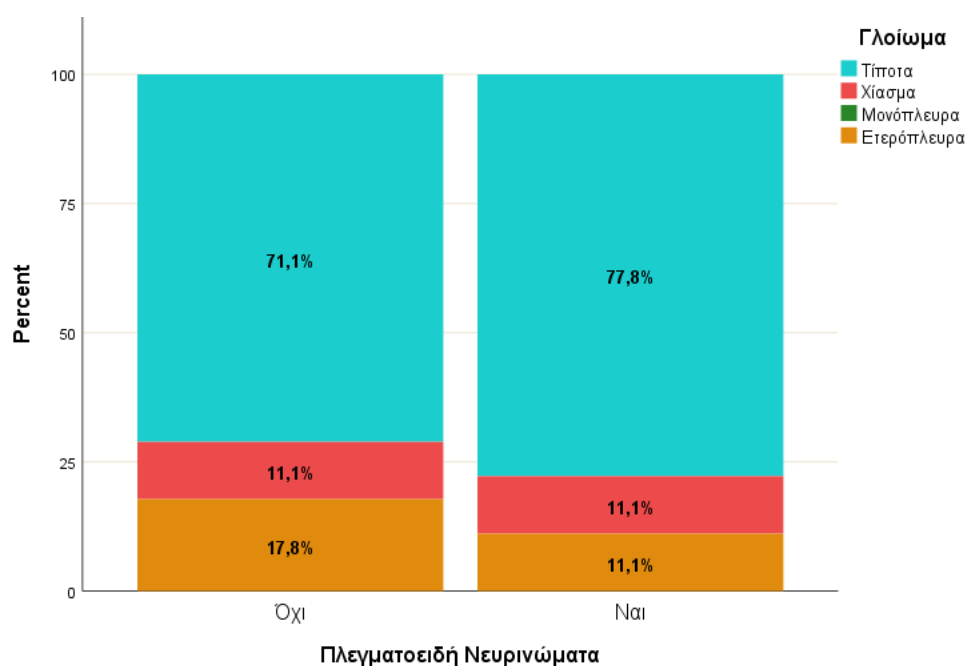
Γράφημα 19. Ραβδόγραμμα (bar chart) σχέσης μεταξύ του γλοιώματος και της ύπαρξης JXG

Στον πίνακα που ακολουθεί περιγράφονται τα δεδομένα, σχετικά με το γλοιώμα και την ύπαρξη ΠΝ.

Πίνακας 25. Πίνακας συνάφειας γλοιώματος και ύπαρξης ΠΝ

		Γλοιώμα			Total
		Τίποτα	Χίασμα	Ετερόπλευρα	
Πλεγματοειδή Νευρινώματα	Όχι	32	5	8	45
	Ναι	14	2	2	18
Total		46	7	10	63

Το αποτέλεσμα του ακριβούς ελέγχου του Fisher (Fisher's Exact Test) δεν αποκάλυψε στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ του γλοιώματος και της ύπαρξης ΠΝ [$p = 0.901$].



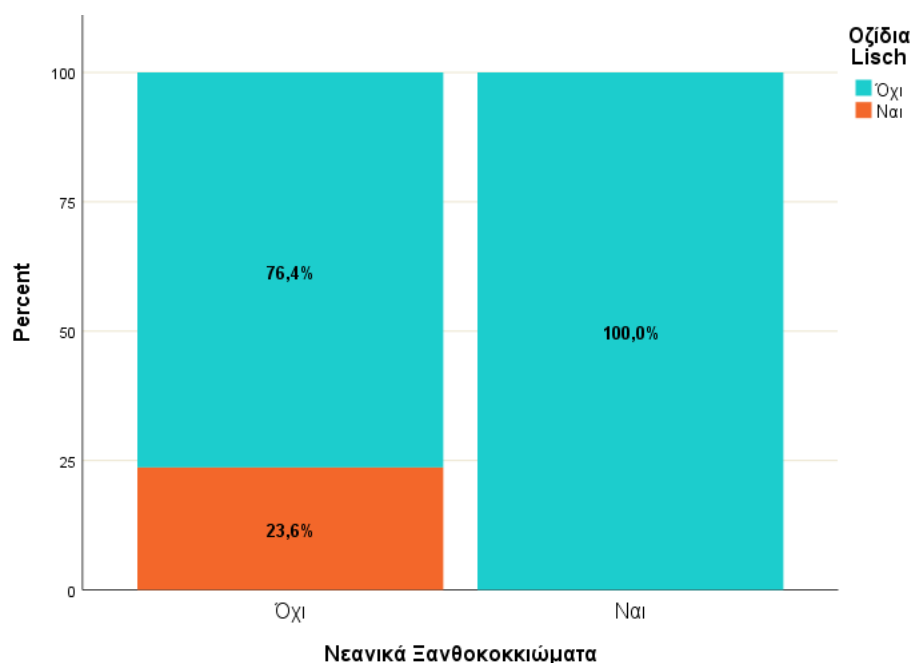
1.8.2.15 Σχετίζεται η ύπαρξη οζιδίων του Lisch με την ύπαρξη JXG ή ΠΝ;

Στον πίνακα που ακολουθεί περιγράφονται τα δεδομένα, σχετικά με την ύπαρξη οζιδίων του Lisch και την ύπαρξη JXG.

Πίνακας 26. Πίνακας συνάφειας ύπαρξης οζιδίων του Lisch και ύπαρξης JXG

		Οζίδια Lisch		Total
		Όχι	Ναι	
Νεανικά Ξανθοκοκκιώματα	Όχι	42	13	55
	Ναι	4	0	4
Total		46	13	59

Το αποτέλεσμα του ακριβούς ελέγχου του Fisher (Fisher's Exact Test) δεν αποκάλυψε στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ ύπαρξης οζιδίων του Lisch και της ύπαρξης JXG [$p = 0.566$].



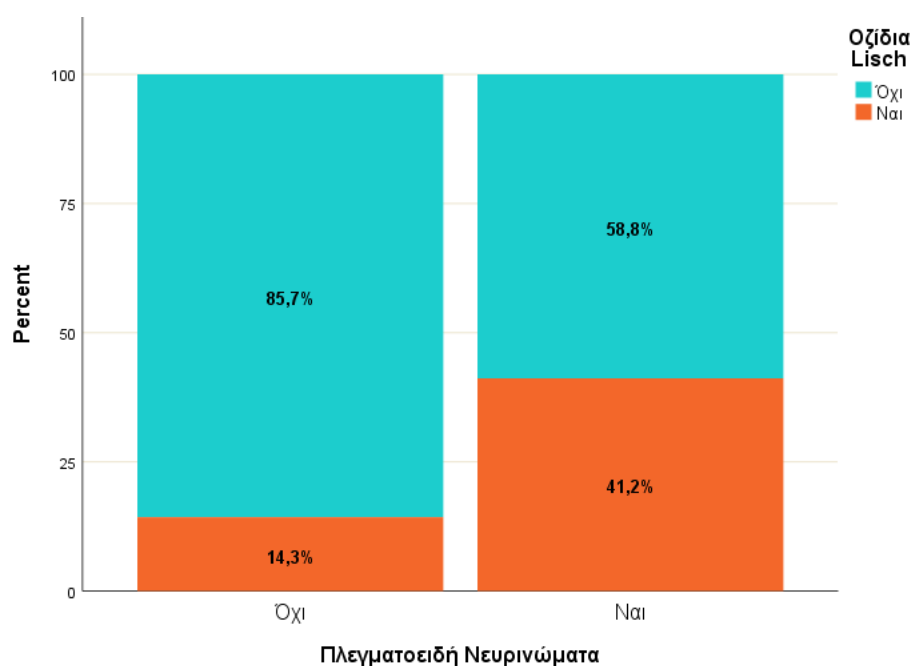
Γράφημα 21. Ραβδόγραμμα (bar chart) σχέσης μεταξύ ύπαρξης οζιδίων του Lisch και της ύπαρξης JXG

Στον πίνακα που ακολουθεί περιγράφονται τα δεδομένα, σχετικά με την ύπαρξη οζιδίων του Lisch και την ύπαρξη ΠΝ.

Πίνακας 27. Πίνακας συνάφειας ύπαρξης οζιδίων του Lisch και ύπαρξης ΠΝ

		Οζίδια Lisch		Total
		Όχι	Ναι	
Πλεγματοειδή Νευρινώματα	Όχι	36	6	42
	Ναι	10	7	17
Total		46	13	59

Το αποτέλεσμα του ακριβούς ελέγχου του Fisher (Fisher's Exact Test) αποκάλυψε στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ ύπαρξης οζιδίων του Lisch και της ύπαρξης ΠΝ [$p = 0.037$]. Συγκεκριμένα, η ύπαρξη Πλεγματοειδούς Νευρινώματος σχετίζεται με την ύπαρξη οζιδίων του Lisch.



1.8.2.16 Σχετίζεται η διάμεση τιμή της ποσότητας μελανίνης των CALMs με το βιολογικό φύλο:

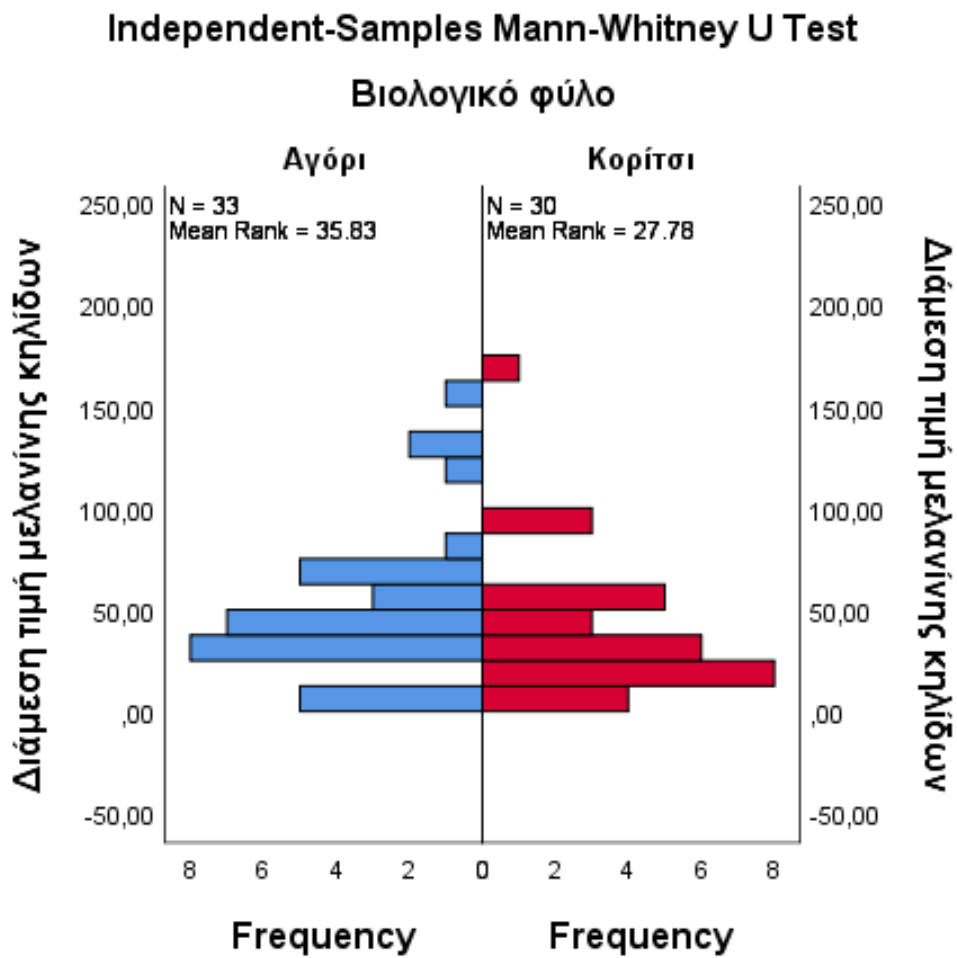
Η δοκιμασία Shapiro-Wilk και η μελέτη των γραφικών παραστάσεων «Normal Q-Q plot», «Detrended Normal Q-Q plot», και «Box Plot» έδειξαν ότι τα δεδομένα της διάμεση τιμή της ποσότητας μελανίνης των CALMs, τόσο στα αγόρια ($p = 0.003$) όσο και στα κορίτσια ($p < 0.001$), δεν προέρχονται από την κανονική κατανομή. Ως εκ τούτου, για τη διερεύνηση της σχέσης ανάμεσα στη διάμεση τιμή της ποσότητας μελανίνης των CALMs και στο βιολογικό φύλο έγινε χρήση του ελέγχου των Mann-Whitney.

Στον πίνακα που ακολουθεί καταγράφονται οι βασικοί στατιστικοί δείκτες της διάμεσης τιμής της ποσότητας μελανίνης των CALMs ανά βιολογικό φύλο.

Πίνακας 28. Βασικοί στατιστικοί δείκτες της διάμεσης τιμής της ποσότητας μελανίνης των CALMs ανά βιολογικό φύλο

		Βιολογικό φύλο	
		Αγόρι	Κορίτσι
Διάμεση τιμή μελανίνης κηλίδων	Mean	52.1	40.4
	Standard Deviation	36.4	34.5
	Median	43.2	31.0
	Percentile 25	29.3	17.8
	Percentile 75	65.7	51.1

Βάσει του ελέγχου των Mann-Whitney δεν παρατηρήθηκε, στατιστικώς σημαντική, διαφορά στη διάμεση τιμή της ποσότητας μελανίνης των CALMs και στο βιολογικό φύλο [$U(N_{\text{ΑΓΟΡΙ}} = 33, N_{\text{ΚΟΡΙΤΣΙ}} = 30) = 368.5, z = -1.741, p = 0.082$].



Γράφημα 23. Γράφημα συχνότητας της διάμεσης τιμής της ποσότητας μελανίνης των CALMs ανά βιολογικό φύλο

1.8.2.17 Σχετίζεται η διάμεση τιμή της ποσότητας μελανίνης των CALMs με την ύπαρξη JXG ή ΠΝ;

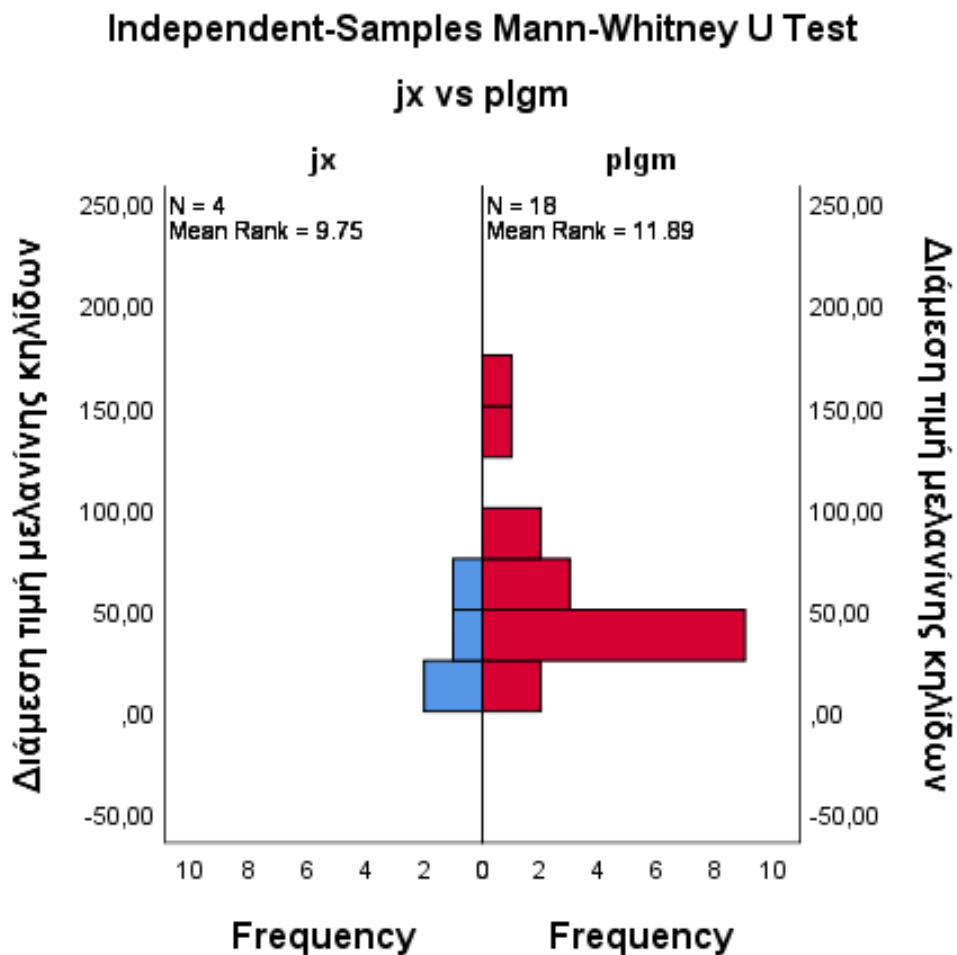
Η δοκιμασία Shapiro-Wilk και η μελέτη των γραφικών παραστάσεων «Normal Q-Q plot», «Detrended Normal Q-Q plot», και «Box Plot» έδειξαν ότι τα δεδομένα της διάμεση τιμή της ποσότητας μελανίνης των CALMs, τόσο στα Νεανικά Ξανθοκοκκιώματα ($p = 0.522$) προέρχονται από την κανονική κατανομή ενώ στα Πλεγματοειδή Νευρινώματα ($p = 0.017$) δεν προέρχονται από την κανονική κατανομή. Ως εκ τούτου, για τη διερεύνηση της σχέσης ανάμεσα στη διάμεση τιμή της ποσότητας μελανίνης των CALMs και στη διάγνωση (JXG vs ΠΝ) έγινε χρήση του ελέγχου των Mann-Whitney.

Στον πίνακα που ακολουθεί καταγράφονται οι βασικοί στατιστικοί δείκτες της διάμεσης τιμής της ποσότητας μελανίνης των CALMs ανά διάγνωση.

Πίνακας 29. Βασικοί στατιστικοί δείκτες της διάμεσης τιμής της ποσότητας μελανίνης των CALMs ανά διάγνωση (JXG vs ΠΝ)

		Βιολογικό φύλο	
		Αγόρι	Κορίτσι
Διάμεση τιμή μελανίνης κηλίδων	Mean	52.1	40.4
	Standard Deviation	36.4	34.5
	Median	43.2	31.0
	Percentile 25	29.3	17.8
	Percentile 75	65.7	51.1

Βάσει του ελέγχου των Mann-Whitney δεν παρατηρήθηκε, στατιστικώς σημαντική, διαφορά στη διάμεση τιμή της ποσότητας μελανίνης των CALMs και στη διάγνωση (JXG vs ΠN) [$U(N_{JXG} = 4, N_{\Pi N} = 18) = 43, z = 0.551, p = 0.594$].



Γράφημα 24. Γράφημα συχνότητας της διάμεσης τιμής της ποσότητας μελανίνης των CALMs ανά διάγνωση (JXG vs ΠN)

1.8.2.18 Σχετίζεται η διάμεση τιμή της ποσότητας μελανίνης των CALMs με τον γονότυπο:

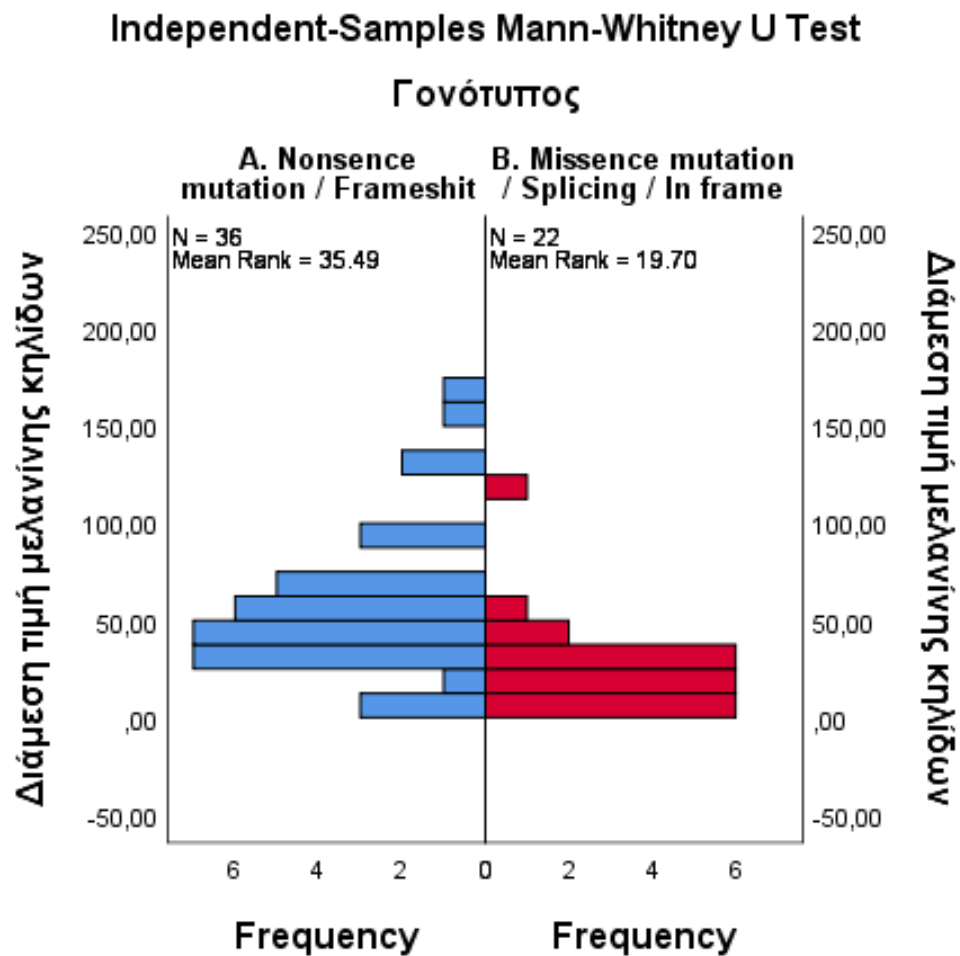
Η δοκιμασία Shapiro-Wilk και η μελέτη των γραφικών παραστάσεων «Normal Q-Q plot», «Detrended Normal Q-Q plot», και «Box Plot» έδειξαν ότι τα δεδομένα της διάμεση τιμή της ποσότητας μελανίνης των CALMs, τόσο στην ομάδα A ($p = 0.002$) όσο και στην ομάδα B ($p < 0.001$) δεν προέρχονται από την κανονική κατανομή. Ως εκ τούτου, για τη διερεύνηση της σχέσης ανάμεσα στη διάμεση τιμή της ποσότητας μελανίνης των CALMs και στον γονότυπο έγινε χρήση του ελέγχου των Mann-Whitney.

Στον πίνακα που ακολουθεί καταγράφονται οι βασικοί στατιστικοί δείκτες της διάμεσης τιμής της ποσότητας μελανίνης των CALMs ανά γονότυπο.

Πίνακας 30. Βασικοί στατιστικοί δείκτες της διάμεσης τιμής της ποσότητας μελανίνης των CALMs ανά γονότυπο

		Γονότυπος	
		A. Nonsense mutation / Frameshit	B. Missence mutation / Splicing / In frame
Διάμεση τιμή μελανίνης κηλίδων	Mean	57.6	28.3
	Standard Deviation	39.0	24.0
	Median	49.4	19.3
	Percentile 25	31.5	11.4
	Percentile 75	68.1	34.3

Βάσει του ελέγχου των Mann-Whitney παρατηρήθηκε, στατιστικώς σημαντική, διαφορά στη διάμεση τιμή της ποσότητας μελανίνης των CALMs και στον γονότυπο [$U(N_A = 36, N_B = 22) = 108.5, z = -3.453, p = 0.001$]. Η διάμεση τιμή της μελανίνης στην ομάδα A ήταν υψηλότερη από την αντίστοιχη της ομάδας B.



Γράφημα 25. Γράφημα συχνότητας της διάμεσης τιμής της ποσότητας μελανίνης των CALMs ανά γονότυπο

1.8.2.19 Διαφέρει το μέγεθος της κηλίδας βάσει της ανατομικής της θέσης:

Η στατιστική δοκιμασία των Kruskal-Wallis αποκάλυψε σημαντική διαφορά στο μέγεθος της κηλίδας βάσει της ανατομικής της θέσης ($\chi^2(4) = 41.3, p < 0.001$), με μέση βαθμολογία διατακτικότητας (mean rank score) 220 για το κεφάλι, 266 για τον θώρακα, 191 για το άνω άκρο, 193 για το κάτω άκρο, και 162 για τη γεννητική χώρα. Η κατά ζεύγη σύγκριση έδειξε ότι:

- Το μέγεθος της κηλίδας στο κεφάλι είναι, στατιστικώς σημαντικά, μεγαλύτερο από ότι στη γεννητική χώρα ($p < 0.001$).
- Το μέγεθος της κηλίδας στον θώρακα είναι, στατιστικώς σημαντικά, μεγαλύτερο από ότι στο άνω άκρο ($p < 0.001$).
- Το μέγεθος της κηλίδας στον θώρακα είναι, στατιστικώς σημαντικά, μεγαλύτερο από ότι στο κάτω άκρο ($p < 0.001$).

Πίνακας 31. Σύγκριση κατά ζεύγη της ανατομικής θέσης

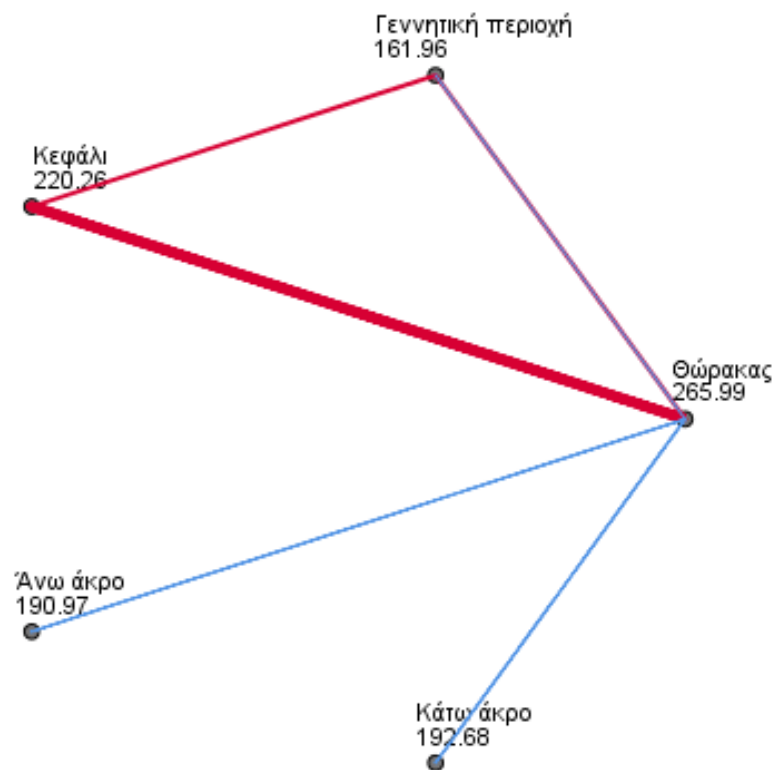
Sample 1-Sample 2	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.	Adj. Sig.a
Γεννητική περιοχή-Άνω άκρο	29.008	26.225	1.106	.269	1.000
Γεννητική περιοχή-Κάτω άκρο	30.721	25.010	1.228	.219	1.000
Γεννητική περιοχή-Κεφάλι	58.297	32.780	1.778	.075	.753
Γεννητική περιοχή-Θώρακας	104.025	22.539	4.615	.000	.000
Άνω άκρο-Κάτω άκρο	-1.713	21.147	-.081	.935	1.000
Άνω άκρο-Κεφάλι	29.289	29.937	.978	.328	1.000
Άνω άκρο-Θώρακας	75.016	18.158	4.131	.000	.000
Κάτω άκρο-Κεφάλι	27.576	28.879	.955	.340	1.000
Κάτω άκρο-Θώρακας	73.304	16.354	4.482	.000	.000
Κεφάλι-Θώρακας	-45.728	26.768	-1.708	.088	.876

Each row tests the null hypothesis that the Sample 1 and Sample 2 distributions are the same.

Asymptotic significances (2-sided tests) are displayed. The significance level is ,05.

a. Significance values have been adjusted by the Bonferroni correction for multiple tests.

Pairwise Comparisons of Ανατομική θέση



Each node shows the sample average rank of Ανατομική θέση.

Γράφημα 26. Γραφική παράσταση της σύγκρισης κατά ζεύγη της ανατομικής θέσης. Οι αριθμοί δίπλα σε κάθε ανατομική θέση αντιστοιχούν στη μέση βαθμολογία διατακτικότητας (mean rank score).

Συζήτηση

Στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχει περιορισμένος αριθμός μελετών που αναφέρονται στην ποσοτικοποίηση της μελάγχρωσης των CALMs σε ασθενείς με NF1 (Frenk and Marazzi 1984; Johnson and Charneco 1970; Takahasi 1976; Benedict et al. 1968). Οι Benedict PH et al. , έδειξαν σταθερά αυξημένο αριθμό επιδερμικών μελανοκυττάρων στις CALMs των ατόμων με NF1 ,σε σύγκριση με τον αριθμό των μελανοκυττάρων στο δέρμα φυσιολογικών ατόμων. Επιπρόσθετα, οι Benedict PH et al. , διαπίστωσαν ότι η αυξημένη πυκνότητα των μελανοκυττάρων δεν περιοριζόταν στο υπερχρωματισμένο δέρμα, αλλά επεκτεινόταν επίσης και στο φυσιολογικής φαινομενικά χρωστικής δέρμα ασθενών με NF1. Παρομοίως οι Johnson BL et al. , προέβησαν σε μετρήσεις μελανοκυττάρων σε ανευρεθείσες CALMs υγιών ατόμων χωρίς NF1 και σε CALMs ασθενών με NF1. Συμπέραναν ότι οι CALMs ασθενών με NF1 περιέχουν περισσότερα θετικά στη χρωστική L-DOPA (λεβοντόπα) μελανοκύτταρα ανά τετραγωνικό χιλιοστό από ότι το περιβάλλον δέρμα τους. Τα μελανοκύτταρα ήταν πολύ φυσιολογικά σε ότι αφορά τη μορφολογία τους, αλλά περιείχαν γιγάντιους κόκκους χρωστικής. Οι CALMs στους ασθενείς χωρίς NF1, περιείχαν λιγότερα μελανοκύτταρα θετικά στη χρωστική L- DOPA ανά τετραγωνικό χιλιοστό από ότι το περιβάλλον δέρμα και , επιπλέον, δεν βρέθηκαν σε κανένα από τα δείγματα που μελετήθηκαν γιγάντιοι κόκκοι χρωστικής ; υποδεικνύοντας συνάμα, ότι οι CALMs που μελετήθηκαν, ήταν απλώς μεγάλου μεγέθους εφηλίδες , καθότι είναι γνωστό ότι οι εφηλίδες έχουν λιγότερα μελανοκύτταρα από το περιβάλλον φυσιολογικού χρώματος, δέρμα (Breathnach AS 1957). Η Takayasi M, μελέτησε CALMs σε 14 Ιάπωνες ασθενείς με NF1 και σπίλους σε 9 Ιάπωνες ασθενείς και προσπάθησε να συσχετίσει τις διαφορές που υπάρχουν στη φύση των μελανοκυττάρων τους (Takahasi 1976). Παρομοίως με την προηγούμενη μελέτη και αυτή η μελέτη οδήγησε στο συμπέρασμα ότι ο αριθμός των μελανοκυττάρων των μελαγχρωματικών βλαβών ήταν πάντοτε αυξημένος σε σχέση με τον αριθμό των μελανοκυττάρων στο περιβάλλον φυσιολογικής χρώσης δέρμα, και επιπλέον, σημείωσε ότι ο αριθμός των μελανοκυττάρων ήταν σημαντικά υψηλότερος στις CALMs κηλίδες σε σύγκριση με τον αριθμό

αυτών στον αχρωμικό σπίλο. Τέλος οι Frenk E et al. , επιβεβαίωσαν τα ανωτέρω αποτελέσματα στη δική τους μελέτη.

Οι CALMs στην NF1 είναι το πιο προεξάρχων και πρώιμο κλινικό εύρημα, αλλά η παθογένειά τους δεν είναι πλήρως κατανοητή και υπάρχει ακόμη συνεχιζόμενη και εκτεταμένη έρευνα προς την κατεύθυνση αυτή . Αν και δεν είναι νεοπλασματικές βλάβες, θεωρούνται ότι είναι το αποτέλεσμα της απώλειας της λειτουργίας του γονιδίου NF1 που προκύπτει από μια βλαστική μετάλλαξη και συνοδεύεται ταυτόχρονα από μια σωματική μετάλλαξη του γονιδίου NF1 στα πρώιμα μελανίνουκτταρα (Albaghdadi, Thibodeau, and Lara-Corrales 2022; Boyd, Korf, and Theos 2009). Προηγούμενες μελέτες υποστήριξαν αυτή την υπόθεση, αλλά τόσο ο αριθμός των ασθενών όσο και ο αριθμός των CALMs που μελετήθηκαν δεν ήταν επαρκής για να παρέχουν ισχυρά στοιχεία (Frenk and Marazzi 1984; De Schepper et al. 2005; Boyd et al. 2010)

Στην παρούσα μελέτη καταδείξαμε επίσης την παρουσία σημαντικής μεταβλητότητας στην περιεκτικότητα σε μελανίνη στις CALMs μεταξύ των ασθενών μας με NF1 και επιπρόσθετα , ότι οι ασθενείς με NF1 με πρωτεϊνικές παραλλαγές περικοπής (protein truncating variants) έχουν σημαντικά υψηλότερη περιεκτικότητα σε μελανίνη στις CALMs σε σύγκριση με τους ασθενείς με μη πρωτεϊνικές παραλλαγές περικοπής (non protein truncating variants). Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι οι παραλλαγές περικοπής πρωτεΐνης μπορεί να οδηγήσουν σε πιο σοβαρή απορρύθμιση της μελανινογένεσης.

Σε συμφωνία με τα αποτελέσματά μας, οι Boyd et al έδειξαν επίσης σημαντικά πιο μελανές κηλίδες σε άτομα με γενετικές παραλλαγές της βλαστικής γραμμής που οδηγούσαν σε ανοσοανεπάρκεια, αν και μόνο επτά (7) από τους είκοσι τέσσερις (24) ασθενείς της μελέτης τους είχαν υποβληθεί σε γενετικό έλεγχο (Boyd et al. 2010).

Ένα ενδιαφέρον εύρημα στην κοόρτη μας ήταν η παρουσία περισσότερων σε αριθμό CALMs στα κορίτσια και υψηλότερης περιεκτικότητας σε μελανίνη CALMs στα αγόρια σε σχέση με τα κορίτσια. Αυτά τα ευρήματα θα μπορούσαν να είναι ενδεικτικά των επιρροών του φύλου στη δερματική εκδήλωση της NF1. Στην πραγματικότητα, αυτό υποστηρίζεται από μελέτες που δείχνουν ότι το φύλο είναι ένας πολύ σημαντικός προγνωστικός παράγοντας που υπερτονίζει τη νευρωνική

δυσλειτουργία στην NF1 και επισημαίνει ότι το φύλο θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη κατά την ερμηνεία μελλοντικών προ κλινικών και κλινικών μελετών (Diggs-Andrews et al. 2014).

Ένας από τους βασικούς στόχους της ανάλυσής μας, ήταν η μελέτη της συσχέτισης μεταξύ του φαινοτύπου των CALMs και του γονοτύπου. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως και από τους Boyd et al, καταλήξαμε στο συμπέρασμα ότι οι ασθενείς με NF1 που φέρουν πρωτεϊνικές παραλλαγές περικοπής/protein truncating variants [nonsense and splice site (frame-shift) variants] έχουν σημαντικά υψηλότερη περιεκτικότητα μελανίνης στις CALMs σε σχέση με τους ασθενείς που φέρουν μη πρωτεϊνικές παραλλαγές περικοπής/protein truncating variants [missense, splice site (in-frame) variants], υποστηρίζοντας ότι οι πρωτεϊνικές παραλλαγές περικοπής/protein truncating variants, μπορεί να οδηγήσουν σε πιο σημαντική απορρύθμιση της μελανινογένεσης.

Συσχετίσεις γονότυπου-φαινότυπου έχουν αναφερθεί στην παγκόσμια βιβλιογραφία σε ορισμένους ασθενείς με NF1 (Tsiipi et al. 2018; Pasmant et al. 2012). Ακολουθώς αναφέρουμε τις σημαντικότερες εξ αυτών :

α) Οι M. Ruggieri et al, έχουν περιγράψει ότι τα αμφοτερόπλευρα νευροϊνώματα της σπονδυλικής στήλης που εντοπίζονται και στις 38 νευρικές ρίζες του νωτιαίου μυελού, φαίνονται αξιοσημείωτα αυξημένα σε ασθενείς με NF1 που φέρουν μεταλλάξεις παρανοηματικές/ missense mutations (Ruggieri and Huson 2001).

β) Ο H. Kehrer-Sawatzki et al, αναφέρουν ότι όταν η νευροϊνωμάτωση οφείλεται σε διαγραφές του γονιδίου NF1 (large NF1 gene deletions), συνοδεύεται συχνότερα από δυσμορφισμό του προσώπου, υπερτηλορισμό, εφηλίδες προσώπου, εφηλίδες μασχαλιαίας/βουβωνικής χώρας και σκελετικές ανωμαλίες (Hildegard Kehrer-Sawatzki, Mautner, and Cooper 2017).

γ) Οι M. Koczkowska et al, περιέγραψαν στοιχεία για έναν πιο σοβαρό κλινικό φαινότυπο NF1, ο οποίος σχετίζεται με μεταλλάξεις που επηρεάζουν τα συγκεκριμένα κωδικόνια της NF1 844-848 (germline mutation affecting amino acid Arg1809) (Koczkowska et al. 2018).

δ) Οι Kang E et al, έδειξαν εκ των προτέρων, ότι οι ασθενείς που φέρουν μεταλλάξεις αποκοπής/ματίσματος και μεγάλες διαγραφές γονιδίων (truncating and splicing genetic variants and large deletions), συχνά εμφανίζουν λιγότερο

σοβαρό κλινικό φαινότυπο σε σχέση με τους ασθενείς που φέρουν παρανοσηματικές μεταλλάξεις (Kang et al. 2019).

ε) Αξιοσημείωτο είναι, ότι οι Rojnueangnit K et al, κατέληξαν στην παρατήρηση ότι οι ασθενείς που φέρουν τη μετάλλαξη της βλαστικής σειράς (germline) που επηρεάζει το αμινοξύ Arg1809, παρουσιάζονται με πολλαπλές CALMs, με ή χωρίς εφηλίδες μασχαλαίας/ή και βουβωνικής χώρας και οζίδια Lisch και με σημαντικά μειωμένη συχνότητα εμφάνισης τόσων καλοήθων όσο και κακοήθων όγκων που σχετίζονται με την NF1. Μάλιστα το 25% περίπου αυτών των ασθενών έχουν χαρακτηριστικά που ομοιάζουν με το σύνδρομο Noonan (Rojnueangnit et al. 2015).

Επιπρόσθετα, αξίζει να σημειωθεί ότι στην δική μας μελέτη, δεν παρατηρήσαμε σημαντική συσχέτιση μεταξύ του τύπου της μετάλλαξης και κάποιων άλλων φαινοτυπικών χαρακτηριστικών που μελετήθηκαν, όπως τα οζίδια Lisch, τα γλοιώματα και οι σκελετικές ανωμαλίες (σκολίωση, ψευδάρθρωση, δυσπλασία σφηνοειδούς οστού).

Στην προσπάθειά μας να συσχετίσουμε τον γονότυπο με τον φαινότυπο της NF1, αναζητήσαμε την ύπαρξη σχέσης ανάμεσα στον γονότυπο και την παθολογία του ΚΝΣ (επιληψία, μαθησιακές δυσκολίες και αυτισμός). Αυτή η σχέση ομοιάζει να είναι σημαντική, διότι περίπου το 38% των παιδιών με NF1 έχουν διαταραχή ελλειμματικής προσοχής/υπερκινητικότητας και ορισμένες μελέτες αναφέρουν ότι το 29% των παιδιών με NF1 έχουν διαταραχή του φάσματος του αυτισμού (Shruti Garg et al. 2013). Μάλιστα οι Annukka Lethonen et al, επανεξέτασαν με τη μέθοδο της ανασκόπησης ,5746 επιστημονικά άρθρα που αφορούσαν στην διερεύνηση των συμπεριφορικών συστημάτων , της προσοχής και της κοινωνικότητας των παιδιών με NF1 , και κατέληξαν στα ακόλουθα δύο συμπεράσματα (Annukka Lehtonen et al. 2013):

1. Η ευφυΐα, οι ακαδημαϊκές δεξιότητες, οι οπτικοχωρικές δεξιότητες, η κοινωνική ικανότητα και η προσοχή είναι μειωμένες σε παιδιά με NF1.
2. Σε ότι αφορά τη μνήμη, την κινητική λειτουργία, την γλώσσα και τις εκτελεστικές λειτουργίες οι ενδείξεις είναι λιγότερο σαφείς.

Στην δική μας μελέτη, μετά από ενδελεχή συλλογή πληροφοριών και επακόλουθη στατιστική ανάλυση αυτών, καταλήξαμε στο συμπέρασμα ότι δεν υπάρχει καμία

στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ του παθολογικού ιστορικού του ΚΝΣ και του γονότυπου ($p = 0.812$).

Συγχρόνως, στην μελέτη κοορτής μας με γενετικά επιβεβαιωμένη NF1, αναζητήσαμε την ύπαρξη συσχέτισης του NF1 γονότυπου με την παρουσία Ν.Ξ.Κ και εξωτερικών ΠΝ. Το Ν.Ξ.Κ αποτελεί συνήθως ένα καλόηθες, αυτοπεριοριζόμενο οζίδιο και στην ουσία πρόκειται για έναν τύπο ιστοκυττάρωσης από μη Langerhans κύτταρα, άγνωστης αιτιολογίας και παθογένειας. Ο επιπολασμός των Ν.Ξ.Κ στα παιδιά με NF1, κυμαίνεται από 18% έως 35% (Cambiaghi, Restano, and Caputo 2004) και μπορεί να εμφανιστούν αρκετά νωρίς, όπως και οι CALMs (Ozarslan et al. 2021). Επιπλέον, έχει αναφερθεί ότι η παρουσία Ν.Ξ.Κ σε παιδιά με NF1, θα πρέπει να προειδοποιεί τους γιατρούς για την πιθανή έναρξη της οξείας μυελογενούς λευχαιμίας, αλλά αυτή η γνώση δεν έχει ακόμη πλήρως διευκρινιστεί (Meynier and Rieux-Laucat 2020). Σε ότι αφορά τη δική μας μελέτη, βρήκαμε μια στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ του γονότυπου της NF1 και της ύπαρξης Ν.Ξ.Κ. Στη δική μας ομάδα ασθενών με NF1, μόνο 4 (6,7%) είχαν ένδειξη Ν.Ξ.Κ και 2 εξ αυτών είχαν πρωτεϊνικές παραλλαγές περικοπής/protein truncating variants [nonsense and splice site (frame-shift) variants] και οι άλλοι 2 είχαν μη πρωτεϊνικές παραλλαγές περικοπής/protein truncating variants [missense, splice site (in-frame) variants]. Τα ΠΝ παρατηρούνται στο 20-30% των ασθενών με NF1. Είναι συγγενείς όγκοι που προέρχονται από κύτταρα Schwann που προκύπτουν από σωματικές μεταλλάξεις του αλληλόμορφου αρχικού τύπου γονιδίου NF1 (Pemon et al. 2017). Τα ΠΝ μπορεί να είναι εσωτερικά, όταν δεν μπορούν να εκτιμηθούν με φυσική εξέταση, ή εξωτερικά (ΕΠΝ). Τα Ε.Π.Ν συχνά προβάλλουν ως διευρύνσεις του υποδορίου μαλακού ιστού με συνοδό εικόνα ρυτίδωσης ή με υπερμελάγχρωση, με ή χωρίς υπερτρίχωση (Bergqvist et al. 2020). Στη δική μας ομάδα ασθενών με NF1, τα ΕΠΝ ήταν παρόντα σε 16 ασθενείς (25,4%) και η πλειοψηφία αυτών έφερε πρωτεϊνικές παραλλαγές περικοπής/protein truncating variants. Δεν συμπεριλάβαμε τα εσωτερικά Π.Ν στην ανάλυση διότι δεν είναι εμφανή στη δερματολογική εξέταση και δεν είχαν υποβληθεί όλοι οι ασθενείς στην κοόρτη μας σε διεξοδική απεικόνιση για αναζήτηση τυχών εσωτερικών Π.Ν. Δεδομένου ότι η πλειοψηφία των ασθενών που συμμετείχαν στη μελέτη μας ήταν στην προεφηβεία, δεν υπήρχαν υποδόρια ή περιφερικά οζώδη νευροϊνώματα. Η συσχέτιση

του γονότυπου με την παρουσία υποδόριων ή περιφερικών οζωδών νευροϊνωμάτων δεν πραγματοποιήθηκε, καθώς αυτή η εκδήλωση της NF1 αναπτύσσεται συνήθως κατά την εφηβεία και στην κοόρτη μας η πλειονότητα των ασθενών ήταν προεφηβική.

Άλλες δερματικές εκδηλώσεις που σχετίζονται με την NF1 αποτελούν οι εφηλίδες και οι αχρωμικοί σπίλοι (Α.Σ). Οι εφηλίδες στη μασχαλιαία και/ή στη βουβωνική χώρα, αποτελούν θεμελιώδες διαγνωστικό κριτήριο της NF1 (Bergqvist et al. 2020). Πρόκειται για μικρές ομαδοποιημένες μελαγχρωματικές κηλίδες (διαμέτρου 1 έως 3 mm) που εμφανίζονται αργότερα από τις CALMs και είναι παρούσες σε ποσοστό μεγαλύτερο από το 90% των ασθενών με NF1 μέχρι και την ηλικία των 7 ετών. Καταγράφηκε η παρουσία εφηλίδων στη μασχαλιαία ή/και βουβωνική χώρα στο 63,5% των ασθενών στην κοόρτη μας, κάτι που πιθανότατα οφειλόταν στη νεότερη διάμεση ηλικία του πληθυσμού της μελέτης μας. Στην κοόρτη μας, ο Α.Σ ανιχνεύθηκε μόνο σε δύο ασθενείς, αν και έχει αναφερθεί να ανευρίσκεται σε ποσοστό έως και 50% των ασθενών με NF1 (Ozarslan et al. 2021; De Schepper et al. 2005). Η χαμηλή συχνότητα του Α.Σ στην ομάδα των ασθενών μας είναι αινιγματική και μπορεί να σχετίζεται με εθνικές διαφορές. Θεωρούμε ότι η αξιολόγηση μιας μελέτης κοόρτης με μεγαλύτερο αριθμό ασθενών θα οδηγούσε στην καλύτερη κατανόηση αυτής της παρατήρησης στη βάση της.

Τα δυνατά σημεία της μελέτης μας ήταν ο αριθμός των ασθενών με NF1 που συμπεριλήφθηκαν και το γεγονός ότι όλοι εξ αυτών είχαν γενετικά επιβεβαιωμένη νόσο NF1. Η μελέτη μας είχε ορισμένους περιορισμούς. Ο μεμονωμένος ερευνητής που πραγματοποίησε τη δοκιμή ήταν «τυφλός» ως προς την κατάσταση NF1. Συνεπώς, δεν υπήρχε η δυνατότητα μεροληψίας. Δεύτερον, μετρήσαμε μόνο έξι (6 CALMs για κάθε ξεχωριστό παιδί, λόγω ζητημάτων συμμόρφωσης, που είναι το ελάχιστο διαγνωστικό κριτήριο για τη διάγνωση NF1, επομένως η ύπαρξη άλλων συσχετίσεων γονότυπου φαινοτύπου CALMs -NF1 μπορεί να έχει υποτιμηθεί.

Το DSMIII είναι ένα αποτελεσματικό και αξιόπιστο εργαλείο για την αξιολόγηση της ποσότητας μελάγχρωσης των CALMs (Boyd et al. 2010). Προηγούμενες μελέτες που χρησιμοποίησαν αυτό το μοντέλο έχουν επιτυχώς δείξει την

αξιοπιστία και την αποτελεσματικότητα της μέτρησης της μελάγχρωσης του δέρματος (Clarys et al. 2000).

Η φασματοσκοπία ανάκλασης έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς στη δερματολογική έρευνα για την αντικειμενική μέτρηση του χρώματος του δέρματος, με ελπιδοφόρα και πολύ αξιόπιστα αποτελέσματα (Stamatas et al. 2004). Στο σημείο αυτό αξίζει να αναφέρουμε την ανθρώπινη ανάγκη μη επεμβατικής ποσοτικοποίησης της χρώσης του δέρματος, πέραν της απλής οπτικής παρατήρησης στη διάγνωση και παρακολούθηση αρκετών δερματικών βλαβών. Ιδιαίτερα στην περίπτωση των CALMs που μελετήσαμε εκτενώς στην παρούσα διδακτορική διατριβή, είναι αρκετά δύσκολο να αντιληφθούμε και να προσδιορίσουμε χωρίς τη βοήθεια του διαγνωστικού εργαλείου (σπεκτοφωτόμετρο DSMIII) , την ένταση της μελανίνης.

Συμπερασματικά, η μελέτη μας καταδεικνύει ότι σε ασθενείς με NF1, οι γενετικές πρωτεϊνικές παραλλαγές περικοπής/protein truncating variants [nonsense and splice site (frame-shift) variants], σχετίζονται με υψηλότερη περιεκτικότητα σε μελανίνη στις CALMs, ενώ για άλλες δερματικές εκδηλώσεις όπως τα Ν.Ε.Κ και τα Π.Ν δεν υπάρχει καμία στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τον τύπο της γενετικής παραλλαγής.

Εάν τα αποτελέσματά μας επαληθευτούν σε μελλοντικές μελέτες, η μέτρηση της έντασης της χρωστικής των CALMs θα μπορούσε να εφαρμοστεί σε περιβάλλον περιορισμένων πόρων, ως μια γρήγορη, εύκολη, χωρίς κίνδυνο δοκιμή για την αρχική αξιολόγηση των ασθενών με NF1 και την σοβαρότητα του μελλοντικού φαινοτύπου τους.

Βιβλιογραφικές αναφορές

- Airewele, GE, Wiley Sigurdson, Frieden BE, Caldarera LW, Riccardi VM, Lewis RA, Chintagumpala MM, Ater JL, Plon SE, and Bondy ML. 2001. "Neoplasms in Neurofibromatosis 1 Are Related to Gender but Not to Family History of Cancer." *Genetic Epidemiology* 20 (1): 75–86. [https://doi.org/10.1002/1098-2272\(200101\)20:1<75::aid-gepi7>3.0.co;2-z](https://doi.org/10.1002/1098-2272(200101)20:1<75::aid-gepi7>3.0.co;2-z).
- Alamolhoda, Marzieh, Seyyed Mohammad Taghi Ayatollahi, and Zahra Bagheri. 2017. "A Comparative Study of the Impacts of Unbalanced Sample Sizes on the Four Synthesized Methods of Meta-Analytic Structural Equation Modeling." *BMC Research Notes* 2017 10:1 10 (1): 1–12. <https://doi.org/10.1186/S13104-017-2768-5>.
- Albaghdadi, Mohammed, My Linh Thibodeau, and Irene Lara-Corrales. 2022. "Updated Approach to Patients with Multiple Café Au Lait Macules." *Dermatologic Clinics* 40 (1): 9–23. <https://doi.org/10.1016/J.DET.2021.08.002>.
- Antinheimo, J., R. Sankila, O. Carpén, E. Pukkala, M. Sainio, and J. Jääskeläinen. 2000. "Population-Based Analysis of Sporadic and Type 2 Neurofibromatosis-Associated Meningiomas and Schwannomas." *Neurology* 54 (1): 71–71. <https://doi.org/10.1212/WNL.54.1.71>.
- Ars, E, E Serra, J García, H Kruyer, A Gaona, C Lázaro, and X Estivill. 2000. "Mutations Affecting mRNA Splicing Are the Most Common Molecular Defects in Patients with Neurofibromatosis Type 1." *Human Molecular Genetics* 9 (2): 237–47. <https://doi.org/10.1093/HMG/9.2.237>.
- Baser, Michael E., J. M. Friedman, Dana Aeschliman, Harry Joe, Andrew J. Wallace, Richard T. Ramsden, D. Gareth, and R. Evans. 2002. "Predictors of the Risk of Mortality in Neurofibromatosis 2." *The American Journal of Human Genetics* 71 (4): 715–23. <https://doi.org/10.1086/342716>.
- Bausch, Birke, Wiktor Borozdin, Victor F. Mautner, Michael M. Hoffmann, Detlef Boehm, Mercedes Robledo, Alberto Cascon, et al. 2007. "Germline NF1 Mutational Spectra and Loss-of-Heterozygosity Analyses in Patients with Pheochromocytoma and Neurofibromatosis Type 1." *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 92 (7): 2784–92.

<https://doi.org/10.1210/JC.2006-2833>.

- Benedict, P. H., G. Szabó, T. B. Fitzpatrick, and S. J. Sinesi. 1968. "Melanotic Macules in Albright's Syndrome and in Neurofibromatosis." *JAMA* 205 (9): 618–626.
- Bergqvist, Christina, Amandine Servy, Laurence Valeyrie-Allanore, Salah Ferkal, Patrick Combemale, Pierre Wolkenstein, Henri Adamski, et al. 2020. "Neurofibromatosis 1 French National Guidelines Based on an Extensive Literature Review since 1966." *Orphanet Journal of Rare Diseases* 15 (1). <https://doi.org/10.1186/S13023-020-1310-3>.
- Bernards, Andre, Allard J. Snijders, Gregory E. Hannigan, Anita E. Murthy, and James F. Gusella. 1993. "Mouse Neurofibromatosis Type 1 CDNA Sequence Reveals High Degree of Conservation of Both Coding and Non-Coding MRNA Segments." *Human Molecular Genetics* 2 (6): 645–50. <https://doi.org/10.1093/HMG/2.6.645>.
- Bollag, G., F. McCormick, and R. Clark. 1993. "Characterization of Full-Length Neurofibromin: Tubulin Inhibits Ras GAP Activity." *The EMBO Journal* 12 (5): 1923–27. <https://doi.org/10.1002/J.1460-2075.1993.TB05841.X>.
- Boyanapalli, Madanamohan, Oscar B. Lahoud, Ludwine Messiaen, Bhumsoo Kim, Marianna S. Anderle De Saylor, Sara J. Duckett, Sita Somara, and Daniel D. Mikol. 2006. "Neurofibromin Binds to Caveolin-1 and Regulates Ras, FAK, and Akt." *Biochemical and Biophysical Research Communications* 340 (4): 1200–1208. <https://doi.org/10.1016/J.BBRC.2005.12.129>.
- Boyd, Kevin P., Liyan Gao, Rui Feng, Mark Beasley, Ludwine Messiaen, Bruce R. Korf, and Amy Theos. 2010. "Phenotypic Variability among Café-Au-Lait Macules in Neurofibromatosis Type 1." *Journal of the American Academy of Dermatology* 63 (3): 440–47. <https://doi.org/10.1016/J.JAAD.2009.09.042>.
- Boyd, Kevin P., Bruce R. Korf, and Amy Theos. 2009. "Neurofibromatosis Type 1." *Journal of the American Academy of Dermatology* 61 (1): 1–14. <https://doi.org/10.1016/J.JAAD.2008.12.051>.
- Brems, Hilde, Magdalena Chmara, Mourad Sahbatou, Ellen Denayer, Koji Taniguchi, Reiko Kato, Riet Somers, et al. 2007. "Germline Loss-of-Function Mutations in SPRED1 Cause a Neurofibromatosis 1-like Phenotype." *Nature Genetics* 2007 39:9 39 (9): 1120–26. <https://doi.org/10.1038/ng2113>.
- Brems, Hilde, and Eric Legius. 2013. "Legius Syndrome, an Update.Molecular

- Pathology of Mutations in SPRED1." *The Keio Journal of Medicine* 62 (4): 107–12. <https://doi.org/10.2302/KJM.2013-0002-RE>.
- Brunner, Edgar, Frank Konietzschke, Arne C Bathke, and Markus Pauly. 2018. "Ranks and Pseudo-Ranks-Paradoxical Results of Rank Tests."
- Buermans, H. P.J., and J. T. den Dunnen. 2014. "Next Generation Sequencing Technology: Advances and Applications." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1842 (10): 1932–41. <https://doi.org/10.1016/J.BBADIS.2014.06.015>.
- Calì, Francesco, Valeria Chiavetta, Giuseppa Ruggeri, Maria Piccione, Angelo Selicorni, Daniela Palazzo, Maria Bonsignore, et al. 2017. "Mutation Spectrum of NF1 Gene in Italian Patients with Neurofibromatosis Type 1 Using Ion Torrent PGM™ Platform." *European Journal of Medical Genetics* 60 (2): 93–99. <https://doi.org/10.1016/J.EJMG.2016.11.001>.
- Cambiaghi, Stefano, Lucia Restano, and Ruggero Caputo. 2004. "Juvenile Xanthogranuloma Associated with Neurofibromatosis 1: 14 Patients without Evidence of Hematologic Malignancies." *Pediatric Dermatology* 21 (2): 97–101. <https://doi.org/10.1111/J.0736-8046.2004.21201.X>.
- Chou, LS, CS Liu, B Boese, X Zhang, and R Mao. 2010. "DNA Sequence Capture and Enrichment by Microarray Followed by Next-Generation Sequencing for Targeted Resequencing: Neurofibromatosis Type 1 Gene as a Model." *Clinical Chemistry* 56 (1): 62–72. <https://doi.org/10.1373/CLINCHEM.2009.132639>.
- Clarys, P., K. Alewaeters, R. Lambrecht, and A. O. Barel. 2000. "Skin Color Measurements: Comparison between Three Instruments: The Chromameter(R), the DermaSpectrometer(R) and the Mexameter(R)." *Skin Research and Technology: Official Journal of International Society for Bioengineering and the Skin (ISBS) [and] International Society for Digital Imaging of Skin (ISDIS) [and] International Society for Skin Imaging (ISSI)* 6 (4): 230–38. <https://doi.org/10.1034/J.1600-0846.2000.006004230.X>.
- Clementi, Maurizio, Guido Barbujani, Licia Turolla, and Romano Tenconi. 1990. "Neurofibromatosis-1: A Maximum Likelihood Estimation of Mutation Rate." *Human Genetics* 1990 84:2 84 (2): 116–18. <https://doi.org/10.1007/BF00208923>.
- Crowe, F. 1956. "A Clinical, Pathological, and Genetic Study of Multiple

- Neurofibromatosis.” 1956.
https://openlibrary.org/books/OL6178926M/A_clinical_pathological_and_genetic_study_of_multiple_neurofibromatosis.
- DeBella, K, J Szudek, and JM Friedman. 2000. “Use of the National Institutes of Health Criteria for Diagnosis of Neurofibromatosis 1 in Children.” *Pediatrics* 105 (3 Pt 1): 608–14. <https://doi.org/10.1542/PEDS.105.3.608>.
- DeClue, JE, BD Cohen, and DR Lowy. 1991. “Identification and Characterization of the Neurofibromatosis Type 1 Protein Product.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 88 (22): 9914–18. <https://doi.org/10.1073/PNAS.88.22.9914>.
- Denayer, Ellen, Koen Devriendt, Thomy De Ravel, Griet Van Buggenhout, Eric Smeets, Inge Francois, Yves Sznajer, et al. 2010. “Tumor Spectrum in Children with Noonan Syndrome and SOS1 or RAF1 Mutations.” *Genes Chromosomes and Cancer* 49 (3): 242–52. <https://doi.org/10.1002/GCC.20735>.
- Diggs-Andrews, Kelly A., Jacquelyn A. Brown, Scott M. Gianino, Joshua B. Rubin, David F. Wozniak, and David H. Gutmann. 2014. “Sex Is a Major Determinant of Neuronal Dysfunction in Neurofibromatosis Type 1.” *Annals of Neurology* 75 (2): 309. <https://doi.org/10.1002/ANA.24093>.
- “DNA Sequencing Costs: Data.” n.d. Accessed July 19, 2021. <https://www.genome.gov/about-genomics/fact-sheets/DNA-Sequencing-Costs-Data>.
- Ducatman, Barbara S., Bernd W. Scheithauer, David G. Piepgras, and Herbert M. Reiman. 1984. “Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumors in Childhood.” *Journal of Neuro-Oncology* 2 (3): 241–48. <https://doi.org/10.1007/BF00253276>.
- Dunzendorfer-Matt, Theresia, Ellen L. Mercado, Karl Maly, Frank McCormick, and Klaus Scheffzek. 2016. “The Neurofibromin Recruitment Factor Spred1 Binds to the GAP Related Domain without Affecting Ras Inactivation.” *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113 (27): 7497–7502. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1607298113>.
- Duong, Tu Anh, Emilie Sbidian, Laurence Valeyrie-Allanore, Cédric Vialette, Salah Ferkal, Smaïl Hadj-Rabia, Christophe Glorion, et al. 2011. “Mortality Associated with Neurofibromatosis 1: A Cohort Study of 1895 Patients in

- 1980-2006 in France.” *Orphanet Journal of Rare Diseases* 2011 6:1 6 (1): 1–8.
<https://doi.org/10.1186/1750-1172-6-18>.
- Elefteriou, F, M Kolanczyk, A Schindeler, DH Viskochil, JM Hock, EK Schorry, AH Crawford, et al. 2009. “Skeletal Abnormalities in Neurofibromatosis Type 1: Approaches to Therapeutic Options.” *American Journal of Medical Genetics. Part A* 149A (10): 2327–38. <https://doi.org/10.1002/AJMG.A.33045>.
- Evans, D. G.R., S. M. Huson, D. Donnai, W. Neary, V. Blair, V. Newton, T. Strachan, and R. Harris. 1992. “A Genetic Study of Type 2 Neurofibromatosis in the United Kingdom. II. Guidelines for Genetic Counselling.” *Journal of Medical Genetics* 29 (12): 847–52. <https://doi.org/10.1136/JMG.29.12.847>.
- Evans, D.G., E. Howard, C. Giblin, T. Clancy, H. Spencer, S.M. Huson, and F. Laloo. 2010. “Birth Incidence and Prevalence of Tumor-Prone Syndromes: Estimates from a UK Family Genetic Register Service.” *American Journal of Medical Genetics Part A* 152A (2): 327–32. <https://doi.org/10.1002/AJMG.A.33139>.
- Evans, D G, S M Huson, D Donnai, W Neary, V Blair, D Teare, V Newton, T Strachan, R Ramsden, and R Harris. 1992. “A Genetic Study of Type 2 Neurofibromatosis in the United Kingdom. I. Prevalence, Mutation Rate, Fitness, and Confirmation of Maternal Transmission Effect on Severity.” *Journal of Medical Genetics* 29 (12): 841–46. <https://doi.org/10.1136/JMG.29.12.841>.
- Evans, D Gareth R, Catherine O’Hara, Anna Wilding, Sarah L Ingham, Elizabeth Howard, John Dawson, Anthony Moran, Vilka Scott-Kitching, Felicity Holt, and Susan M Huson. 2011. “Mortality in Neurofibromatosis 1: In North West England: An Assessment of Actuarial Survival in a Region of the UK since 1989.” *European Journal of Human Genetics* 2011 19:11 19 (11): 1187–91. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2011.113>.
- Evans, D, H Salvador, VY Chang, A Erez, SD Voss, KW Schneider, HS Scott, SE Plon, and U Tabori. 2017. “Cancer and Central Nervous System Tumor Surveillance in Pediatric Neurofibromatosis 1.” *Clinical Cancer Research* 23 (12): e46–53. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-0589>.
- Evans, DG, ME Baser, J McGaughran, S Sharif, E Howard, and A Moran. 2002. “Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumours in Neurofibromatosis 1.” *Journal of Medical Genetics* 39 (5): 311–14.

<https://doi.org/10.1136/JMG.39.5.311>.

- Evans, DGR, H Salvador, VY Chang, A Erez, SD Voss, KW Schneider, HS Scott, SE Plon, and U Tabori. 2017. "Cancer and Central Nervous System Tumor Surveillance in Pediatric Neurofibromatosis 1." *Clinical Cancer Research : An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 23 (12): e46–53. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-0589>.
- Fahsold, Raimund, Sven Hoffmeyer, Claudia Mischung, Christoph Gille, Christian Ehlers, Nazan Küçükceylan, Maher Abdel-Nour, et al. 2000. "Minor Lesion Mutational Spectrum of the Entire NF1 Gene Does Not Explain Its High Mutability but Points to a Functional Domain Upstream of the GAP-Related Domain." *The American Journal of Human Genetics* 66 (3): 790–818. <https://doi.org/10.1086/302809>.
- Fazii, P, M Passamonti, G Lappa, R Di Mascio, and E Ballone. 1998. "Prevalence of Neurofibromatosis Type 1 among the Young Adult Population of Central Italy." *Archives of Dermatology* 134 (10): 1303–4. <https://doi.org/10.1001/ARCHDERM.134.10.1303>.
- Frenk, E., and A. Marazzi. 1984. "Neurofibromatosis of von Recklinghausen: A Quantitative Study of the Epidermal Keratinocyte and Melanocyte Populations." *The Journal of Investigative Dermatology* 83 (1): 23–25. <https://doi.org/10.1111/1523-1747.EP12261648>.
- Friedman, JM. 1999. "Epidemiology of Neurofibromatosis Type 1." *American Journal of Medical Genetics* 1 (89): 1–6.
- . 2019. "Neurofibromatosis 1." Edited by R.A. Pagon, M.P. Adam, and H.H. Ardinger. *GeneReviews*, June, [no pagination].
- Friedrich, RE, M Hartmann, and VF Mautner. 2007. "Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumors (MPNST) in NF1-Affected Children." *Anticancer Research* 27 (4A).
- Fuller, L., B. Cox, and R. Gardner. 1989. "Prevalence of von Recklinghausen Neurofibromatosis in Dunedin, New Zealand." *Undefined*.
- Garg, S, A Lehtonen, SM Huson, R Emsley, D Trump, DG Evans, and J Green. 2013. "Autism and Other Psychiatric Comorbidity in Neurofibromatosis Type 1: Evidence from a Population-Based Study." *Developmental Medicine & Child Neurology* 55 (2): 139–45. <https://doi.org/10.1111/DMCN.12043>.

- Garg, Shruti, Jonathan Green, Kathy Leadbitter, Richard Emsley, Annukka Lehtonen, Gareth Evans, and Susan M. Huson. 2013. "Neurofibromatosis Type 1 and Autism Spectrum Disorder." *Pediatrics* 132 (6). <https://doi.org/10.1542/PEDS.2013-1868>.
- Garty, B Z, A Laor, and Y L Danon. 1994. "Neurofibromatosis Type 1 in Israel: Survey of Young Adults." *Journal of Medical Genetics* 31 (11): 853–57. <https://doi.org/10.1136/JMG.31.11.853>.
- Gutmann, David H., Arthur Aylsworth, John C. Carey, Bruce Korf, Joan Marks, Reed E. Pyeritz, Allan Rubenstein, and David Viskochil. 1997. "The Diagnostic Evaluation and Multidisciplinary Management of Neurofibromatosis 1 and Neurofibromatosis 2." *JAMA* 278 (1): 51–57. <https://doi.org/10.1001/JAMA.1997.03550010065042>.
- Hakimi, Mohamed-Ali, David W. Speicher, and Ramin Shiekhattar. 2002. "The Motor Protein Kinesin-1 Links Neurofibromin and Merlin in a Common Cellular Pathway of Neurofibromatosis*." *Journal of Biological Chemistry* 277 (40): 36909–12. <https://doi.org/10.1074/JBC.C200434200>.
- Han, SS, DN Cooper, and MN Upadhyaya. 2001. "Evaluation of Denaturing High Performance Liquid Chromatography (DHPLC) for the Mutational Analysis of the Neurofibromatosis Type 1 (NF1) Gene." *Human Genetics* 109 (5): 487–97. <https://doi.org/10.1007/S004390100594>.
- Hsueh, Yi-Ping, Anne M. Roberts, Manuela Volta, Morgan Sheng, and Roland G. Roberts. 2001. "Bipartite Interaction between Neurofibromatosis Type I Protein (Neurofibromin) and Syndecan Transmembrane Heparan Sulfate Proteoglycans." *Journal of Neuroscience* 21 (11): 3764–70. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-11-03764.2001>.
- Huson, SM. 2008. "The Neurofibromatoses: Classification, Clinical Features and Genetic Counselling." *Monographs in Human Genetics* 16: 1–20. <https://doi.org/10.1159/000126500>.
- Huson, SM, DA Compston, P Clark, and PS Harper. 1989. "A Genetic Study of von Recklinghausen Neurofibromatosis in South East Wales. I. Prevalence, Fitness, Mutation Rate, and Effect of Parental Transmission on Severity." *Journal of Medical Genetics* 26 (11): 704–11. <https://doi.org/10.1136/JMG.26.11.704>.

- Imaizumi, Yoko. 1995. "Mortality of Neurofibromatosis in Japan, 1968–1992." *The Journal of Dermatology* 22 (3): 191–95. <https://doi.org/10.1111/J.1346-8138.1995.TB03369.X>.
- Ingham, Sarah, Susan M. Huson, Anthony Moran, James Wylie, Michael Leahy, and D. Gareth R. Evans. 2011. "Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumours in NF1: Improved Survival in Women and in Recent Years." *European Journal of Cancer* 47 (18): 2723–28. <https://doi.org/10.1016/J.EJCA.2011.05.031>.
- Ingordo, CDR Vito, ENS Giuliano D'Andria, LT Salvatore Mendicini, ENS Michele Grecucci, and Antonio Baglivo. 1995. "Segmental Neurofibromatosis: Is It Uncommon or Underdiagnosed?" *Archives of Dermatology* 131 (8): 959–60. <https://doi.org/10.1001/ARCHDERM.1995.01690200099023>.
- Jacks, Tyler, T. Shane Shih, Earlene M. Schmitt, Roderick T. Bronson, Andre Bernards, and Robert A. Weinberg. 1994. "Tumour Predisposition in Mice Heterozygous for a Targeted Mutation in Nf1." *Nature Genetics* 1994 7:37 (3): 353–61. <https://doi.org/10.1038/ng0794-353>.
- Johnson, B. L., and D. R. Charneco. 1970. "Café Au Lait Spot in Neurofibromatosis and in Normal Individuals." *Archives of Dermatology* 102 (4): 442–446.
- Jouhilahti, EM, S Peltonen, AM Heape, and J Peltonen. 2011. "The Pathoetiology of Neurofibromatosis 1." *The American Journal of Pathology* 178 (5): 1932–39. <https://doi.org/10.1016/J.AJPATH.2010.12.056>.
- Kang, Eungu, Yoon Myung Kim, Go Hun Seo, Arum Oh, Hee Mang Yoon, Young Shin Ra, Eun Key Kim, et al. 2019. "Phenotype Categorization of Neurofibromatosis Type I and Correlation to NF1 Mutation Types." *Journal of Human Genetics* 2019 65:265 (2): 79–89. <https://doi.org/10.1038/s10038-019-0695-0>.
- Kehrer-Sawatzki, H., Thomas Schwickardt, Günter Assum, Mariano Rocchi, and Winfrid Krone. 1997. "A Third Neurofibromatosis Type 1 (NF1) Pseudogene at Chromosome 15q11.2." *Human Genetics* 1997 100:5100 (5): 595–600. <https://doi.org/10.1007/S004390050559>.
- Kehrer-Sawatzki, Hildegard, · Said Farschtschi, · Victor-Felix Mautner, and David N Cooper. 2017. "The Molecular Pathogenesis of Schwannomatosis, a Paradigm for the Co-Involvement of Multiple Tumour Suppressor Genes in Tumorigenesis." *Human Genetics* 136: 129–48. <https://doi.org/10.1007/s00439-016-1753-8>.

- Kehrer-Sawatzki, Hildegard, Victor Felix Mautner, and David N. Cooper. 2017. "Emerging Genotype-Phenotype relationships in Patients with Large NF1 Deletions." *Human Genetics* 136 (4): 349. <https://doi.org/10.1007/S00439-017-1766-Y>.
- Kluwe, L, M Tatagiba, C Fünsterer, and V-F Mautner. 2003. "NF1 Mutations and Clinical Spectrum in Patients with Spinal Neurofibromas." *Journal of Medical Genetics* 40 (5): 368-71. <https://doi.org/10.1136/JMG.40.5.368>.
- Kluwe, Lan, Reiner Siebert, Stefan Gesk, Reinhard E. Friedrich, Sigrid Tinschert, Hildegard Kehrer-Sawatzki, Victor-F. Mautner, et al. 2004. "Screening 500 Unselected Neurofibromatosis 1 Patients for Deletions of the NF1 Gene" 23 (2): 111-16. <https://doi.org/10.1002/HUMU.10299>.
- Koczkowska, Magdalena, Yunjia Chen, Tom Callens, Alicia Gomes, Angela Sharp, Sherrell Johnson, Meng Chang Hsiao, et al. 2018. "Genotype-Phenotype Correlation in NF1: Evidence for a More Severe Phenotype Associated with Missense Mutations Affecting NF1 Codons 844-848." *The American Journal of Human Genetics* 102 (1): 69-87. <https://doi.org/10.1016/J.AJHG.2017.12.001>.
- Krab, LC, FK Aarsen, A de Goede-Bolder, CE Catsman-Berrevoets, WF Arts, HA Moll, and Y Elgersma. 2008. "Impact of Neurofibromatosis Type 1 on School Performance." *Journal of Child Neurology* 23 (9): 1002-10. <https://doi.org/10.1177/0883073808316366>.
- Kuorilehto, T., M. Pöyhönen, R. Bloigu, J. Heikkinen, K. Väänänen, and Juha Peltonen. 2004. "Decreased Bone Mineral Density and Content in Neurofibromatosis Type 1: Lowest Local Values Are Located in the Load-Carrying Parts of the Body." *Osteoporosis International* 16:8 16 (8): 928-36. <https://doi.org/10.1007/S00198-004-1801-4>.
- Lammert, Marga, Jan M. Friedman, Lan Kluwe, and Victor F. Mautner. 2005. "Prevalence of Neurofibromatosis 1 in German Children at Elementary School Enrollment." *Archives of Dermatology* 141 (1): 71-74. <https://doi.org/10.1001/ARCHDERM.141.1.71>.
- Lara-Corrales, Irene, Mitra Moazzami, Maria Teresa García-Romero, Elena Pope, Patricia Parkin, Andrea Shugar, and Peter Kannu. 2017. "Mosaic Neurofibromatosis Type 1 in Children: A Single-Institution Experience:"

- <https://doi.org/10.1177/1203475417708163> 21 (5): 379–82.
<https://doi.org/10.1177/1203475417708163>.
- Legius, E, DA Marchuk, BK Hall, LB Andersen, MR Wallace, FS Collins, and TW Glover. 1992. "NF1-Related Locus on Chromosome 15." *Genomics* 13 (4): 1316–18. [https://doi.org/10.1016/0888-7543\(92\)90055-W](https://doi.org/10.1016/0888-7543(92)90055-W).
- Lehtonen, A, E Howie, D Trump, and SM Huson. 2013. "Behaviour in Children with Neurofibromatosis Type 1: Cognition, Executive Function, Attention, Emotion, and Social Competence." *Developmental Medicine and Child Neurology* 55 (2): 111–25. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8749.2012.04399.X>.
- Lehtonen, Annukka, Emma Howie, Dorothy Trump, and Susan M. SM Huson. 2013. "Behaviour in Children with Neurofibromatosis Type 1: Cognition, Executive Function, Attention, Emotion, and Social Competence." *Developmental Medicine and Child Neurology* 55 (2): 111–25. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8749.2012.04399.X>.
- Listernick, R, DN Louis, RJ Packer, and DH Gutmann. 1997. "Optic Pathway Gliomas in Children with Neurofibromatosis 1: Consensus Statement from the NF1 Optic Pathway Glioma Task Force." *Annals of Neurology* 41 (2): 143–49. <https://doi.org/10.1002/ANA.410410204>.
- Listernick, Robert, Anthony J. Mancini, and Joel Charrow. 2003. "Segmental Neurofibromatosis in Childhood." *American Journal of Medical Genetics Part A* 121A (2): 132–35. <https://doi.org/10.1002/AJMG.A.20183>.
- Luijten, Mirjam, Sandra Redeker, Shinsei Minoshima, Nobuyoshi Shimizu, Andries Westerveld, and Theo J. Hulsebos. 2014. "Duplication and Transposition of the NF1 Pseudogene Regions on Chromosomes 2, 14, and 22." *Human Genetics* 2001 109:1 109 (1): 109–16. <https://doi.org/10.1007/S004390100543>.
- MacCollin, M., E. A. Chiocca, D. G. Evans, J. M. Friedman, R. Horvitz, D. Jaramillo, M. Lev, et al. 2005. "Diagnostic Criteria for Schwannomatosis." *Neurology* 64 (11): 1838–45. <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000163982.78900.AD>.
- Maertens, Ophélie, Hans Prenen, Maria Debiec-Rychter, Agnieszka Wozniak, Raf Sciot, Patrick Pauwels, Ivo De Wever, et al. 2006. "Molecular Pathogenesis of Multiple Gastrointestinal Stromal Tumors in NF1 Patients." *Human Molecular*

- Genetics* 15 (6): 1015–23. <https://doi.org/10.1093/HMG/DDL016>.
- Malhotra, Ritu, and Nancy Ratner. 1994. "Localization of Neurofibromin to Keratinocytes and Melanocytes in Developing Rat and Human Skin." *Journal of Investigative Dermatology* 102 (5): 812–18. <https://doi.org/10.5555/URI:PII:0022202X94904227>.
- Margulies, Marcel, Michael Egholm, William E. Altman, Said Attiya, Joel S. Bader, Lisa A. Bembien, Jan Berka, et al. 2005. "Genome Sequencing in Microfabricated High-Density Picolitre Reactors." *Nature* 2005 437:7057 437 (7057): 376–80. <https://doi.org/10.1038/nature03959>.
- Maruoka, R, T Takenouchi, C Torii, A Shimizu, K Misu, K Higasa, Matsuda F, et al. 2014. "The Use of Next-Generation Sequencing in Molecular Diagnosis of Neurofibromatosis Type 1: A Validation Study." *Genetic Testing and Molecular Biomarkers* 18 (11): 722–35. <https://doi.org/10.1089/GTMB.2014.0109>.
- Masocco, Maria, Yllka Kodra, Monica Vichi, Susanna Conti, Mark Kanieff, Monica Pace, Luisa Frova, and Domenica Taruscio. 2011. "Mortality Associated with Neurofibromatosis Type 1: A Study Based on Italian Death Certificates (1995-2006)." *Orphanet Journal of Rare Diseases* 2011 6:1 6 (1): 1–10. <https://doi.org/10.1186/1750-1172-6-11>.
- Matsui, I, M Tanimura, N Kobayashi, T Sawada, N Nagahara, and J Akatsuka. 1993. "Neurofibromatosis Type 1 and Childhood Cancer." *Cancer* 72 (9): 2746–2754.
- Mautner, Victor-Felix, Matthias Lindenau, Michael E. Baser, Wasim Hazim, Marcos Tatagiba, Wolfgang Hasse, Madjid Samii, Roland Wais, and Stefan-M. Pulst. 1996. "The Neuroimaging and Clinical Spectrum of Neurofibromatosis 2." *Neurosurgery* 38 (5): 880–86. <https://doi.org/10.1097/00006123-199605000-00004>.
- McGaughran, J, D Harris, D Donnai, D Teare, R MacLeod, R Westerbeek, H Kingston, M Super, R Harris, and D Evans. 1999. "A Clinical Study of Type 1 Neurofibromatosis in North West England." *Journal of Medical Genetics* 36 (3): 197.
- McKeever, K, CW Shepherd, H Crawford, and PJ Morrison. 2008. "An Epidemiological, Clinical and Genetic Survey of Neurofibromatosis Type 1 in Children under Sixteen Years of Age." *The Ulster Medical Journal* 77 (3): 160–

63.

- Messiaen, L, V Riccardi, J Peltonen, O Maertens, T Callens, S L Karvonen, E-L Leisti, et al. 2003. "Independent NF1 Mutations in Two Large Families with Spinal Neurofibromatosis." *Journal of Medical Genetics* 40 (2): 122–26. <https://doi.org/10.1136/JMG.40.2.122>.
- Messiaen, L, S Yao, Hi Brems, T Callens, A Sathienkijkanchai, E Denayer, E Spencer, et al. 2009. "Clinical and Mutational Spectrum of Neurofibromatosis Type 1–like Syndrome." *JAMA* 302 (19): 2111–18. <https://doi.org/10.1001/JAMA.2009.1663>.
- Messiaen, LM, T Callens, G Mortier, D Beysen, I Vandenbroucke, N Van Roy, F Speleman, and AD Paepe. 2000. "Exhaustive Mutation Analysis of the NF1 Gene Allows Identification of 95% of Mutations and Reveals a High Frequency of Unusual Splicing Defects." *Human Mutation* 15 (6): 541–555.
- Meynier, Sonia, and Frédéric Rieux-Laucat. 2020. "After 95 years, It's Time to ERASe JMML." *Blood Reviews* 43 (September): 100652. <https://doi.org/10.1016/J.BLRE.2020.100652>.
- Minkelen, R. van, Y. van Bever, J.N.R. Kromosoeto, C.J. Withagen-Hermans, A. Nieuwlaat, D.J.J. Halley, and A.M.W. van den Ouweland. 2014. "A Clinical and Genetic Overview of 18 Years Neurofibromatosis Type 1 Molecular Diagnostics in the Netherlands." *Clinical Genetics* 85 (4): 318–27. <https://doi.org/10.1111/CGE.12187>.
- Müllauer, Leonhard. 2017. "Milestones in Pathology—from Histology to Molecular Biology." *Memo - Magazine of European Medical Oncology* 2017 10:1 10 (1): 42–45. <https://doi.org/10.1007/S12254-016-0307-Z>.
- Niemeyer, C.M., M. Aricó, G. Basso, A. Biondi, A. Cantú Rajnoldi, U. Creutzig, O. Haas, et al. 1997. "Chronic Myelomonocytic Leukemia in Childhood: A Retrospective Analysis of 110 Cases." *Blood* 89 (10): 3534–43. <https://doi.org/10.1182/BLOOD.V89.10.3534>.
- Nordlund, Michael, Michael Nordlund, Xiao Gu, Michael T. Shipley, and Nancy Ratner. 1993. "Neurofibromin Is Enriched in the Endoplasmic Reticulum of CNS Neurons." *J NEUROSCI*.
- Ozarslan, Bengisu, Teresa Russo, Giuseppe Argenziano, Claudia Santoro, and Vincenzo Piccolo. 2021. "Cutaneous Findings in Neurofibromatosis Type 1."

- Cancers* 13 (3): 1–17. <https://doi.org/10.3390/CANCERS13030463>.
- Page, PZ, GP Page, E Ecosse, BR Korf, A Leplege, and P Wolkenstein. 2006. “Impact of Neurofibromatosis 1 on Quality of Life: A Cross-Sectional Study of 176 American Cases.” *American Journal of Medical Genetics. Part A* 140 (18): 1893–98. <https://doi.org/10.1002/AJMG.A.31422>.
- Parry, DM, R Eldridge, MI Kaiser-Kupfer, EA Bouzas, A Pikus, and N Patronas. 1994. “Neurofibromatosis 2 (NF2): Clinical Characteristics of 63 Affected Individuals and Clinical Evidence for Heterogeneity.” *American Journal of Medical Genetics* 52 (4): 450–61. <https://doi.org/10.1002/AJMG.1320520411>.
- Pasmant, Eric, Michel Vidaud, Dominique Vidaud, and Pierre Wolkenstein. 2012. “Neurofibromatosis Type 1: From Genotype to Phenotype.” *Journal of Medical Genetics* 49 (8): 483–89. <https://doi.org/10.1136/JMEDGENET-2012-100978>.
- Peltonen, Sirkku, and Minna Pöyhönen. 2012. “Clinical Diagnosis and Atypical Forms of NF1.” *Neurofibromatosis Type 1: Molecular and Cellular Biology* 9783642328640 (August): 17–30. https://doi.org/10.1007/978-3-642-32864-0_2.
- Pemov, A., H. Li, R. Patidar, N. F. Hansen, S. Sindiri, S. W. Hartley, J. S. Wei, et al. 2017. “The Primacy of NF1 Loss as the Driver of Tumorigenesis in Neurofibromatosis Type 1-Associated Plexiform Neurofibromas.” *Oncogene* 36:22 36 (22): 3168–77. <https://doi.org/10.1038/onc.2016.464>.
- Perry, Arie, Kevin A. Roth, Ruma Banerjee, Christine E. Fuller, and David H. Gutmann. 2001. “NF1 Deletions in S-100 Protein-Positive and Negative Cells of Sporadic and Neurofibromatosis 1 (NF1)-Associated Plexiform Neurofibromas and Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumors.” *The American Journal of Pathology* 159 (1): 57–61. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)61673-2](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)61673-2).
- Plotkin, Scott R., Jaishri O. Blakeley, D. Gareth Evans, C. Oliver Hanemann, Theo J.M. Hulsebos, Kim Hunter-Schaedle, Ganjam V. Kalpana, et al. 2013. “Update from the 2011 International Schwannomatosis Workshop: From Genetics to Diagnostic Criteria.” *American Journal of Medical Genetics Part A* 161 (3): 405–16. <https://doi.org/10.1002/AJMG.A.35760>.

- Poyhonen, M, S Kytola, and J Leisti. 2000. "Epidemiology of Neurofibromatosis Type 1 (NF1) in Northern Finland." *Journal of Medical Genetics* 37 (8): 632–36. <https://doi.org/10.1136/JMG.37.8.632>.
- Poyhonen, M, EL Leisti, S Kytölä, and J Leisti. 1997. "Hereditary Spinal Neurofibromatosis: A Rare Form of NF1?" *Journal of Medical Genetics* 34 (3): 184–87. <https://doi.org/10.1136/JMG.34.3.184>.
- Purandare, Smita M., Heidi Huntsman Breidenbach, Ying Li, Xiao Lin Zhu, Shuntchi Sawada, Shannon M. Neil, Arthur Brothman, Ray White, Richard Cawthon, and David Viskochil. 1995. "Identification of Neurofibromatosis 1 (NF1) Homologous Loci by Direct Sequencing, Fluorescence in Situ Hybridization, and PCR Amplification of Somatic Cell Hybrids." *Genomics* 30 (3): 476–85. <https://doi.org/10.1006/GENO.1995.1268>.
- Rasmussen, Sonja A., Quanhe Yang, and J. M. Friedman. 2001. "Mortality in Neurofibromatosis 1: An Analysis Using U.S. Death Certificates." *The American Journal of Human Genetics* 68 (5): 1110–18. <https://doi.org/10.1086/320121>.
- Riccardi, V M, and R A Lewis. 1988. "Penetrance of von Recklinghausen Neurofibromatosis: A Distinction between Predecessors and Descendants." *American Journal of Human Genetics* 42 (2): 284.
- Rojnueangnit, Kitiwan, Jing Xie, Alicia Gomes, Angela Sharp, Tom Callens, Yunjia Chen, Ying Liu, et al. 2015. "High Incidence of Noonan Syndrome Features Including Short Stature and Pulmonic Stenosis in Patients Carrying NF1 Missense Mutations Affecting p.Arg1809: Genotype–Phenotype Correlation." *Human Mutation* 36 (11): 1052–63. <https://doi.org/10.1002/HUMU.22832>.
- Roudebush, M, T Slabe, V Sundaram, CL Hoppel, M Golubic, and DW Stacey. 1997. "Neurofibromin Colocalizes with Mitochondria in Cultured Cells." *Experimental Cell Research* 236 (1): 161–72. <https://doi.org/10.1006/EXCR.1997.3712>.
- Rouleau, Guy A., Philippe Merel, Mohini Lutchman, Marc Sanson, Jessica Zucman, Claude Marineau, Khé Hoang-Xuan, et al. 1993. "Alteration in a New Gene Encoding a Putative Membrane-Organizing Protein Causes Neuro-Fibromatosis Type 2." *Nature* 1993 363:6429 363 (6429): 515–21. <https://doi.org/10.1038/363515a0>.

- Ruggieri, Martino, and Susan M. Huson. 2001. "The Clinical and Diagnostic Implications Mosaicism in the Neurofibromatoses." *Neurology* 56 (11): 1433–43. <https://doi.org/10.1212/WNL.56.11.1433>.
- Samuelsson, B, and R Axelsson. 1981. "Neurofibromatosis. A Clinical and Genetic Study of 96 Cases in Gothenburg, Sweden." *Acta Dermato-Venereologica* 95: 67–71.
- Sanger, F, S Nicklen, and AR Coulson. 1977. "DNA Sequencing with Chain-Terminating Inhibitors." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 74 (12): 5463–67. <https://doi.org/10.1073/PNAS.74.12.5463>.
- Schepper, Sofie De, Joachim Boucneau, Jo Lambert, Ludwine Messiaen, and Jean Marie Naeyaert. 2005. "Pigment Cell-Related Manifestations in Neurofibromatosis Type 1: An Overview." *Pigment Cell Research* 18 (1): 13–24. <https://doi.org/10.1111/J.1600-0749.2004.00206.X>.
- Schneider, Michael, Angela C. Obringer, Elaine Zackai, and Anna T. Meadows. 1986. "Childhood Neurofibromatosis: Risk Factors for Malignant Disease." *Cancer Genetics and Cytogenetics* 21 (4): 347–54. [https://doi.org/10.1016/0165-4608\(86\)90216-5](https://doi.org/10.1016/0165-4608(86)90216-5).
- Seizinger, B. R., G. A. Rouleau, L. J. Ozelius, A. H. Lane, A. G. Faryniarz, M. V. Chao, S. Huson, et al. 1987. "Genetic Linkage of von Recklinghausen Neurofibromatosis to the Nerve Growth Factor Receptor Gene." *Cell* 49 (5): 589–94. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(87\)90534-4](https://doi.org/10.1016/0092-8674(87)90534-4).
- Seminog, O O, and M J Goldacre. 2012. "Risk of Benign Tumours of Nervous System, and of Malignant Neoplasms, in People with Neurofibromatosis: Population-Based Record-Linkage Study." *British Journal of Cancer* 2013 108:1 108 (1): 193–98. <https://doi.org/10.1038/bjc.2012.535>.
- Sergeyev, A. S. 1975. "On the Mutation Rate of Neurofibromatosis." *Human Genetics* 1975 28:2 28 (2): 129–38. <https://doi.org/10.1007/BF00735745>.
- Shah, KN. 2010. "The Diagnostic and Clinical Significance of Café-Au-Lait Macules." *Pediatric Clinics of North America* 57 (5): 1131–53. <https://doi.org/10.1016/J.PCL.2010.07.002>.
- Shilyansky, C, YS Lee, and AJ Silva. 2010. "Molecular and Cellular Mechanisms of Learning Disabilities: A Focus on NF1." *Annual Review of Neuroscience* 33

- (January): 221–43. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-NEURO-060909-153215>.
- Side, L, B Taylor, M Cayouette, E Conner, P Thompson, M Luce, and K Shannon. 1997. “Homozygous Inactivation of the NF1 Gene in Bone Marrow Cells from Children with Neurofibromatosis Type 1 and Malignant Myeloid Disorders.” *The New England Journal of Medicine* 336 (24): 1713–20. <https://doi.org/10.1056/NEJM199706123362404>.
- Sørensen, Sven Asger, John J. Mulvihill, and Arne Nielsen. 2009. “Long-Term Follow-up of von Recklinghausen Neurofibromatosis.” [Http://Dx.Doi.Org/10.1056/NEJM198604173141603](http://Dx.Doi.Org/10.1056/NEJM198604173141603) 314 (16): 1010–15. <https://doi.org/10.1056/NEJM198604173141603>.
- Spencer, Emily, Julia Davis, Fady Mikhail, Chuanhua Fu, Raymon Vijzelaar, Elaine H Zackai, Holly Feret, et al. 2011. “Identification of SPRED1 Deletions Using RT-PCR, Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification and Quantitative PCR.” *American Journal of Medical Genetics Part A* 155 (6): 1352–59. <https://doi.org/10.1002/AJMG.A.33894>.
- Stamatas, Georgios N., Barbara Z. Zmudzka, Nikiforos Kollias, and Janusz Z. Beer. 2004. “Non-Invasive Measurements of Skin Pigmentation in Situ.” *Pigment Cell Research* 17 (6): 618–26. <https://doi.org/10.1111/J.1600-0749.2004.00204.X>.
- Stiller, CA, JM Chessells, and M Fitchett. 1994. “Neurofibromatosis and Childhood Leukaemia/Lymphoma: A Population-Based UKCCSG Study.” *British Journal of Cancer* 1994 70:5 70 (5): 969–72. <https://doi.org/10.1038/bjc.1994.431>.
- Suzuki, Harukazu, Naoki Ozawa, Chiharu Taga, Takeshi Kano, Masahira Hattori, and Yoshiyuki Sakaki. 1994. “Genomic Analysis of a NF1 -Related Pseudogene on Human Chromosome 21.” *Gene* 147 (2): 277–80. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(94\)90081-7](https://doi.org/10.1016/0378-1119(94)90081-7).
- Szudek, J., H. Joe, and J.M. Friedman. 2002. “Analysis of Intrafamilial Phenotypic Variation in Neurofibromatosis 1 (NF1).” *Genetic Epidemiology* 23 (2): 150–64. <https://doi.org/10.1002/GEPI.1129>.
- Tabori, Uri, Jordan R. Hansford, Maria Isabel Achatz, Christian P. Kratz, Sharon E. Plon, Thierry Frebourg, and Laurence Brugières. 2017. “Clinical Management and Tumor Surveillance Recommendations of Inherited Mismatch Repair

- Deficiency in Childhood.” *Clinical Cancer Research* 23 (11): e32–37.
<https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-0574>.
- Takahasi, M. 1976. “Studies on Café Au Lait Spots in Neurofibromatosis and Pigmented Macules of Nevus Spilus.” *The Tohoku Journal of Experimental Medicine* 118 (3): 255–273.
- “The National Institutes of Health (NIH) Consensus Development Program: Neurofibromatosis.” 1987. 1987.
<https://consensus.nih.gov/1987/1987Neurofibramatosis064html.htm>.
- Tsipi, Maria, Myrto Poulou, Eirini Fylaktou, Konstantina Kosma, Eirini Tsoutsou, Maria Roser Pons, Eleftheria Kokkinou, Sofia Kitsiou-Tzeli, Helen Fryssira, and Maria Tzetis. 2018. “Phenotypic Expression of a Spectrum of Neurofibromatosis Type 1 (NF1) Mutations Identified through NGS and MLPA.” *Journal of the Neurological Sciences* 395 (December): 95–105.
<https://doi.org/10.1016/J.JNS.2018.10.006>.
- Upadhyaya, M. 2010. “Neurofibromatosis Type 1: Diagnosis and Recent Advances.” *Expert Opinion on Medical Diagnostics* 4 (4): 307–22.
<https://doi.org/10.1517/17530059.2010.494660>.
- Upadhyaya, Meena, Gill Spurlock, Bisma Monem, Nick Thomas, Reinhard E. Friedrich, Lan Kluwe, and Victor Mautner. 2008. “Germline and Somatic NF1 Gene Mutations in Plexiform Neurofibromas.” *Human Mutation* 29 (8): E103–11. <https://doi.org/10.1002/HUMU.20793>.
- Vaart, T van der, AB Rietman, E Plasschaert, E Legius, Y Elgersma, and HA Moll. 2016. “Behavioral and Cognitive Outcomes for Clinical Trials in Children with Neurofibromatosis Type 1.” *Neurology* 86 (2): 154–60.
<https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002118>.
- Venter, J. Craig, Mark D. Adams, Eugene W. Myers, Peter W. Li, Richard J. Mural, Granger G. Sutton, Hamilton O. Smith, et al. 2001. “The Sequence of the Human Genome.” *Science* 291 (5507): 1304–51.
<https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1058040>.
- Viskochil, D. 2002. “Genetics of Neurofibromatosis 1 and the NF1 Gene.” *Journal of Child Neurology* 17 (8): 562–70.
<https://doi.org/10.1177/088307380201700804>.
- Viskochil, David, Arthur M. Buchberg, Gangfeng Xu, Richard M. Cawthon, Jeffrey

- Stevens, Roger K. Wolff, Melanie Culver, et al. 1990. "Deletions and a Translocation Interrupt a Cloned Gene at the Neurofibromatosis Type 1 Locus." *Cell* 62 (1): 187–92. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(90\)90252-A](https://doi.org/10.1016/0092-8674(90)90252-A).
- Walker, L, D Thompson, D Easton, B Ponder, M Ponder, I Frayling, and D Baralle. 2006. "A Prospective Study of Neurofibromatosis Type 1 Cancer Incidence in the UK." *British Journal of Cancer* 95 (2): 233–38. <https://doi.org/10.1038/SJ.BJC.6603227>.
- Wallace, MR, DA Marchuk, LB Andersen, R Letcher, HM Odeh, AM Saulino, JW Fountain, et al. 1990. "Type 1 Neurofibromatosis Gene: Identification of a Large Transcript Disrupted in Three NF1 Patients." *Science* 249 (4965): 181–86. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.2134734>.
- Walther, McClellan M., Judi Herring, Erik Enquist, Harry R. Keiser, and W. Marston Linehan. 1999. "VON RECKLINGHAUSEN'S DISEASE AND PHEOCHROMOCYTOMAS." *The Journal of Urology* 162 (5): 1582–86. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(05\)68171-2](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(05)68171-2).
- Wimmer, Katharina, Christian P Kratz, Hans F A Vasen, Olivier Caron, Chrystelle Colas, Natacha Entz-Werle, Anne-Marie Gerdes, et al. 2014. "Diagnostic Criteria for Constitutional Mismatch Repair Deficiency Syndrome: Suggestions of the European Consortium 'Care for CMMRD' (C4CMMRD)." *Journal of Medical Genetics* 51 (6): 355–65. <https://doi.org/10.1136/JMEDGENET-2014-102284>.
- Xu, G. F., P. O'Connell, D. Viskochil, R. Cawthon, M. Robertson, M. Culver, D. Dunn, J. Stevens, R. Gesteland, and R. White. 1990. "The Neurofibromatosis Type 1 Gene Encodes a Protein Related to GAP." *Cell* 62 (3): 599–608. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(90\)90024-9](https://doi.org/10.1016/0092-8674(90)90024-9).
- Xu, Gangfeng, Peter O'Connell, David Viskochil, Richard Cawthon, Margaret Robertson, Melanie Culver, Diane Dunn, et al. 1990. "The Neurofibromatosis Type 1 Gene Encodes a Protein Related to GAP." *Cell* 62 (3): 599–608. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(90\)90024-9](https://doi.org/10.1016/0092-8674(90)90024-9).
- Zenker, Martin. 2011. "Clinical Manifestations of Mutations in RAS and Related Intracellular Signal Transduction Factors." *Current Opinion in Pediatrics* 23 (4): 443–51. <https://doi.org/10.1097/MOP.0B013E32834881DD>.

Zöller, M, B Rembeck, HO Akesson, and L Angerval. 1995. "Life Expectancy, Mortality and Prognostic Factors in Neurofibromatosis Type 1. A Twelve-Year Follow-up of an Epidemiological Study in Göteborg, Sweden." *Acta Derm Venereol* 75 (2): 136-40.

Παράρτημα: Γενετικές παραλλαγές NF1 και άλλες δερματικές εκδηλώσεις

<i>Patient</i>	<i>Gender</i>	<i>Age (years)</i>	<i>NF1 variant (Transcript: NM_001042492.3)</i>	<i>Variant /ACMG Classification*</i>	<i>CALMs number</i>	<i>Mean melanin CALMs</i>	<i>Other cutaneous manifestations**</i>
1	F	11	Exon30 c.4084C>T p.Arg1362*	P/ PVS1, PM2, PP5/ protein truncating	25	31,40	FR, CSN
2	M	4	Exon21 c.2729del p.Gly910fs	P/ PVS1, PM2, PP5/ protein truncating	7	55,67	FR
3	M	8,5	Exon29 c.3916C>T p.Arg1306*	P/ PVS1, PM2, PP5/ protein truncating	18	34,00	FR
4	F	16	Exon47 c.6943del p.Leu2315fs	LP/ PVS1, PM2/ protein truncating	15	32,00	FR, PN, CSN
5	M	5	Exon32 c.4183C>T p.Gln1395*	P/ PVS1, PM2, PP5/ protein truncating	12	56,27	FR
6	F	7,5	Exon31 c.4172G>C p.Arg1391Thr	LP/PM1, PP2/ non protein truncating	22	24,59	FR
7	M	2,5	Exon45 c.6792C>A p.Tyr2264*	P/ PVS1, PM2, PP5/ protein truncating	13	54,67	PN
8	M	8	Exon6 c.653dup p.Ala219fs	P/ PVS1, PM2, PP5/ protein truncating	27	24,59	FR
9	F	5	Exon38 c.5390del p.Asn1797fs	P/ PVS1, PM2, PP5/ protein truncating	11	66,67	FR, PN
10	M	13	Exon19 c.2326-3T>G	LP/ PM2, PP3, PP5/Splice-Altering (0.78)** / Protein truncating	8	79,67	FR
11	M	4	Exon24 c.3142T>C p.Trp1048Arg	LP/ PM2, PP3, PP2/ non protein truncating	20	80,24	CSN
12	F	15	Exon22 c.2858T>A p.Leu953*	P/ PVS1, PM2, PP5/ protein truncating	13	63,10	FR, PN
13	F	14	Exon10 c.1063-2A>G	P/ PVS1, PM2, PP5/ Splice-Altering (0.99)**/ Protein truncating	25	66,83	FR
14	F	12,5	Exon40 c.5902C>T p.Arg1968*	P/ PVS1, PM2, PP5/ protein truncating	6	82,97	FR
15	M	10	Exon5 c.579_581del p.Leu194del	P/ PM4/ protein truncating	9	80,50	
16	F	4	Exon4 c.350dup p.Cys118fs	P/ PVS1, PM2, PP5/ protein truncating	28	74,00	

17	M	3	Exon45 c.6720_6721dup p.Asn2241fs	P/ PVS1, PM2, PP5/ protein truncating	10	86,43	FR
18	M	10	Exon38 c.5609G>A p.Arg1870Gln	P/ PS1, PM2, PM5, PM1, PP3, PP2, PP5/ non protein truncating	35	69,40	FR
19	M	9	Exon47 c.7000G>C p.Gly2334Arg	P/ PM2, PP5/ non protein truncating	25	65,38	FR, CSN
20	F	6	Exon50 c.7348C>T p.Arg2450*	P/ PVS1, PM2, PP5/ protein truncating	22	55,21	FR
21	M	1,5	Exon50 c.7348C>T p.Arg2450*	P/ PVS1, PM2, PP5/ protein truncating	15	26,14	FR, PN
22	F	12	Exon38 c.5489G>T p.Arg1830Leu	P/ PM1, PP2, PP5, PM2/ non protein truncating	20	84,37	FR
23	M	14	Exon38 c.5489G>T p.Arg1830Leu	P/ PM1, PP2, PP5, PM2/ non protein truncating	11	78,81	
24	F	13	Exon38 c.5609+1G>A	P/ PVS1, PM2, PP5/Splice-Altering (0.99)/ Protein truncating	14	76,67	FR
25	M	3	Exon40 c.5858T>C p.Leu1953Pro	P/ PP3, PM2/ non protein truncating	6	62,95	
26	M	8	Exon50 c.7348C>T p.Arg2450*	P/ PVS1, PM2/ protein truncating	15	54,00	FR,PN
27	F	16	Exon5 c.501T>A p.Cys167*	P/ PVS1, PM2, PP5/ protein truncating	13	29,03	FR
28	F	2	Exon13 c.1466A>G p.Tyr489Cys	P/ PM2, PM1, PP2/ non protein truncating	24	61,07	FR
29	F	13	Exon21 c.2693T>C p.Leu898Pro	P/ PP3, PM2/ non protein truncating	36	94,27	FR, JXG
30	M	2,5	Exon46 c.6855C>A p.Tyr2285*	P/ PVS1, PM2, PP5/ protein truncating	9	50,82	
31	M	11	Exon15 c.1691_1692insC p.Ala565fs	P/ PVS1, PM2, PP5/ protein truncating	18	98,00	FR, PN, NA
32	M	10	Exon18 c.2248dup p.Thr750fs	P/ PVS1, PM2, PP5/ protein truncating	11	96,52	FR,PN
33	M	4	Exon38 c.5352T>G p.Tyr1784*	LP/ PVS1, PM2/ protein truncating	18	98,07	FR,PN
34	M	6	Exon32 c.4331A>G p.Lys1444Arg	P/ PM1, PP2, PM2/ non protein truncating	13	112,09	FR
35	F	9	Exon9 c.1021_1022del p.Val341fs	P/ PVS1, PM2, PP5/ protein truncating	17	87,26	FR,PN
36	F	1,75	Exon32 c.4331A>G p.Lys1444Arg	P/ PM1, PP2, PM2/ non protein truncating	21	39,16	FR
37	M	4	Exon52 c.7739-3C>A	VUS/ PM2, PP3/ Splice-Altering (low) (0.44)/ non protein truncating	22	88,22	FR
38	F	11	Exon22 c.2970_2972del p.Met991del	P/ PM4, PM5/ protein truncating	8	133,00	
39	Fe	10	Exon22 c.2970_2972del p.Met991del	P/ PM4, PM5/ protein truncating	16	98,74	PN
40	F	8	Exon22 c.2970_2972del p.Met991del	P/ PM4, PM5/ protein truncating	13	106,71	JXG
41	F	16	Exon34 c.4578-9T>A	VUS/ PM2, PP3/ Splice-Altering (0.64)/ non protein truncating	13	88,00	CSN
42	M	4	Exon18 c.2033dup p.Ile679fs	P/ PVS1, PM2, PP5/ protein truncating	10	42,67	PN

43	M	16	Exon9 c.1022_1023insGA p.Ile342fs	P/ PVS1, PM2, PP5/ protein truncating	37	74,91	FR,PN,CSN
44	M	9	Exon7 c.693del p.Phe231fs	P/ PVS1, PM2, PP5/ protein truncating	16	75,23	FR
45	M	9	Exon38 c.5488C>T p.Arg1830Cys	P/ PM1, PM2, PM2/ non protein truncating	13	78,83	FR
46	F	2	Exon25 c.3198-2A>G	P/ PVS1, PM2, PP5/ Splice-Altering (0.97)/ protein truncating	28	55,43	FR
47	F	0,58	Exon17 c.1920del p.Ser641fs	P/ PVS1, PM2, PP5/ protein truncating	25	35,54	PN
48	M	11	Exon35 c.4613del p.Lys1538fs	LP/ PVS1, PM2/ protein truncating	23	43,97	FR, PN
49	F	5	Exon34 c.4432_4433insAA p.Phe1478fs	P/ PVS1, PM2, PP5/ protein truncating	35	75,76	FR
50	F	3	Exon21 c.2540T>C p.Leu847Pro	P/ PM1, PM2/ non protein truncating	23	79,20	JXG
51	M	1	Exon30 c.4084C>T p.Arg1362*	P/ PVS1, PM2, PP5/ protein truncating	25	42,76	
52	F	2,5	Exon21 c.2729del p.Gly910fs	P/ PVS1, PM2, PP5/ protein truncating	7	35,58	
53	M	9	Exon29 c.3916C>T p.Arg1306*	P/ PVS1, PM2, PP5/ protein truncating	18	93,63	PN, CSN
54	M	13	Exon47 c.6943del p.Leu2315fs	LP/PVS1, PM2/ protein truncating	15	52,93	
55	F	0,5	Exon32 c.4183C>T p.Gln1395*	P/ PVS1, PM2, PP5/ protein truncating	12	57,10	
56	F	11	Exon32 c.4235G>C p.Arg1412Thr	LP/PM1, PM2/ non protein truncating	22	70,71	FR, PN, NA, CSN
57	F	1,25	Exon46 c.6855C>A p.Tyr2285*	P/ PVS1, PM2, PP5/ protein truncating	13	57,28	
58	M	3	Exon6 c.653dup p.Ala219fs	P/ PVS1, PM2, PP5/ protein truncating	27	31,40	FR
59	M	3	Exon26 c.3347_3350del p.Asp1116fs	P/PVS1, PM2, PP5/ protein truncating			FR
60	F	5	Exon 29 c.3942G>A, p.Trp1314*	P/PVS1, PM2, PP5/ protein truncating			FR
61	M	4,5	Exon3 c.288_288+2del p.Gln97fs	P/ PVS1, PM2, PP5/ Splice-Altering (0.98)/ protein truncating			JXG
62	M	7	Exon28 c.3789del p.Glu1264fs	P/ PVS1, PM2, PP5/ protein truncating			FR,CSN
63	F	13	Exon19 c.2326-3T>G	LP (Likely pathogenic/ PM2, PP3, PP5/ Splice-Altering (0.78)**/ Truncating mutation			FR

Παράρτημα Πίνακας Συντομογραφίες: *Θ Θήλυ, Α Άρρεν, CALMs Cafe-au-lait κηλίδες, E εφηλίδες, ΔΥΝ δερματικά/υποδόρια νευροϊνώματα, ΠΝ πλεγματοειδή νευρινώματα, ΝΕΚ νεανικά ξανθοκοκκιώματα, ΑΣ nevus anemicus/αναιμικός σπίλος

** Το SpliceAI χρησιμοποιεί βαθιά νευρωνικά δίκτυα για να προβλέψει εάν συμβαίνουν συμβάντα ματίσματος. Η βαθμολογία μπορεί να κυμαίνεται από 0 έως 1, όταν οι βαθμολογίες μπορούν να ερμηνευθούν ως η πιθανότητα στην παραλλαγή να επέλθει splice altering(συναρμογή παραλλαγής)