



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών
— ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837 —

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Α' ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΟΦΘΑΛΜΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

Διευθυντής: Καθηγητής Δημήτριος Παπακωνσταντίνου

«Συμβολή στην έρευνα για τη Νευροϊνωμάτωση»

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Χρυσούλα Κ. Φλώρου, Χειρουργός Οφθαλμίατρος

Αθήνα, Ιανουάριος 2024

Ημερομηνία αίτησης εκπόνησης Διδακτορικής Διατριβής: 25.10.2017

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 30.10.2017

Ημερομηνία ορισμού Θέματος: 28.02.2018

Ημερομηνία κατάθεσης Διδακτορικής Διατριβής: 01.2024

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή:

1. Δημήτριος Παπακωνσταντίνου: Διευθυντής Α' Πανεπιστημιακής Οφθαλμολογικής Κλινικής Αθηνών, Νοσοκομείο "Γ. Γεννηματάς" (Επιβλέπων) *
2. Ηλίας Γεωργάλας: Καθηγητής Οφθαλμολογίας Α' Πανεπιστημιακής Οφθαλμολογικής Κλινικής Αθηνών, Νοσοκομείο "Γ. Γεννηματάς"
3. Κωνσταντίνος Δρούτσας: Επίκουρος Καθηγητής Οφθαλμολογίας Α' Πανεπιστημιακής Οφθαλμολογικής Κλινικής Αθηνών, Νοσοκομείο "Γ. Γεννηματάς"

*Αντικατέστησε στη θέση του επιβλέποντος την αφυπηρετήσασα Καθηγήτρια Οφθαλμολογίας Χρυσάνθη Κουτσανδρέα και ταυτόχρονα στην τριμελή συμβουλευτική επιτροπή προστέθηκε ο καθηγητής Κωνσταντίνος Δρούτσας

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή

1. Δημήτριος Παπακωνσταντίνου: Καθηγητής Οφθαλμολογίας Ιατρικής Σχολής Αθηνών (Επιβλέπων)
2. Ηλίας Γεωργάλας: Καθηγητής Οφθαλμολογίας Ιατρικής Σχολής Αθηνών
3. Κωνσταντίνος Δρούτσας: Επίκουρος Καθηγητής Οφθαλμολογίας Ιατρικής Σχολής Αθηνών
- 4.
- 5.

6.

7.

Ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΗ

Ὅμινα Ἀπόλλωνα Ἱητῶν, καὶ Ἀσκληπιῶν, καὶ Ὑγίαν, καὶ Πανίκειαν, καὶ θεοὺς πάντας τε καὶ πάσας, ἵστωρας ποιούμενος, ἐπιτελεῖα ποιήσῃς κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμὴν ὄρκον τόνδε καὶ ξυγγραφὴν τήνδε, ἰρήσασθαι μὲν τὸν διδάξαντά με τὴν τέχνην ταύτην ἴσα γενέτησιν ἐμοῖσι, καὶ βίου κοινώσασθαι, καὶ χρεῶν χρηρίζοντι μετάδοσιν ποιήσασθαι, καὶ γένος τὸ ἐξ αὐτέου ἀδελφοῖς ἴσον ἐπικρινέειν ἄρρεσι, καὶ διδάξαι τὴν τέχνην ταύτην, ἣν χρηρίζωσι μαθήσκειν, ἄνευ μισθοῦ καὶ ξυγγραφῆς, παραγγελῆς τε καὶ ἀκροήσεως καὶ τῆς λοιπῆς ἀπάσης μαθήσιος μετάδοσιν ποιήσασθαι υἱοῖσί τε ἐμοῖσι, καὶ τοῖσι τοῦ ἐμὲ διδάξαντος, καὶ μαθηταῖσι συγγεγραμμένοιῖσι τε καὶ ἀρκασιμένοις νόμῳ ἱερτικῷ, ἄλλα δὲ οὐδενί. Διατήρημαί τε χρῆσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμὴν, ἐπὶ δηλήσει δὲ καὶ ἀδικίῃ εἴρξω. Οὐ δώσω δὲ οὐδὲ φάρμακον οὐδενὶ αἰτηθεὶς θανάσιμον, οὐδὲ ὑψηλῆσομαι ξυμβουλίην τοσήνδε, ὁμοίως δὲ οὐδὲ γυναικῶν πεσοῦν φθόρον δώσω. Ἄγνως δὲ καὶ ὁσίως διατηρήσω βίον τὸν ἐμὸν καὶ τέχνην τὴν ἐμὴν. Οὐ τεμέω δὲ οὐδὲ μὴν λιθιῶντας, ἐσχωρήσω δὲ ἐργάτησιν ἀνδράσι πρήξιος τῆσδε. Ἐς οὐκίας δὲ ἀκόσας ἂν εἰσάω, ἐσελεύσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων, ἐκτὸς ἐὼν πάσης ἀδικῆς ἐκουσίης καὶ φθορῆς, τῆς τε ἄλλης καὶ ἀφροδισίων ἔργων ἐπὶ τε γυναικείων σαμμάτων καὶ ἀνδράων, ἐλευθέρων τε καὶ δούλων. Ἄ δ' ἂν ἐν θεραπείῃ ἢ ἴδω, ἢ ἀκούσω, ἢ καὶ ἄνευ θεραπείης κατὰ βίον ἀνθρώπων, ἂ μὴ χρῆ ποτε ἐκλαλέεσθαι ἔξω, συήσομαι, ἄρρητα ἠγείμενος εἶναι τὰ τοιαῦτα. Ὅρκον μὲν οὖν μοι τόνδε ἐπιτελεῖα ποίειν, καὶ μὴ ξυγχέοντι, εἴη ἐπαύρασθαι καὶ βίου καὶ τέχνης δοξαζομένῳ παρ' ἀπᾶσιν ἀθρώποις ἐς τὸν αἰῶν χρόνον, παραβαίνοντι δὲ καὶ ἐπιωρκοῦντι, τὰ ναντία τουτέων.

«Η έγκριση της Διδακτορικής Διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Εθνικού και Καποδιστριακού πανεπιστημίου Αθηνών δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα»

(Νόμος 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2)

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ

Καθηγητής Νικόλαος Αρκαδόπουλος

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ.....	9
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	12
A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
1. Εισαγωγή-Νευροϊνωμάτωση τύπου 1.....	14
1.1. Επιδημιολογία-αιτιολογία και παθογένεση.....	17
1.2. Δερματικές αλλοιώσεις.....	18
1.3. Συστηματικές και σκελετικές αλλοιώσεις.....	20
1.4. Οφθαλμολογικές εκδηλώσεις NF1	
1.4.α. Πρόσθιο ημιμόριο.....	21
1.4.β. Οπίσθιο ημιμόριο.....	23
1.4.γ. Οπτικό νεύρο.....	25
1.4.δ. Εξαρτήματα του οφθαλμού.....	25
1.5. Θεραπευτική αντιμετώπιση	
1.5.α. Δικτυωτά νευρινώματα.....	27
1.5.β. Γλοιώματα οπτικής οδού.....	28
2. Νευροϊνωμάτωση τύπου 2.....	31
3. Σβαννωμάτωση.....	32
4. Κερατοειδής χιτώνας και χαρακτηριστικά ενδοθηλίου.....	33
5. Αρχές ενδοθηλιοσκοπησης.....	36
B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
1. Σκοπός	38
2. Μεθοδολογία	
2.1. Πληθυσμός.....	39
2.2. Ανάλυση των παραμέτρων του κερατοειδούς.....	39

2.3 Στατιστική ανάλυση.....	41
3. Αποτελέσματα.....	42
4. Συζήτηση.....	45
5. Συμπεράσματα.....	48
Γ. ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΟΥ	
1. Εισαγωγή-Περιγραφή και Αντιμετώπιση Περιστατικού.....	49
2. Συζήτηση-Συμπεράσματα.....	51
Δ. ΠΕΡΙΛΗΨΗ	
1. Στην ελληνική γλώσσα.....	54
2. Abstract.....	56
Ε. ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟΥ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ.....	
	58
ΣΤ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	59

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Όνοματεπώνυμο: Χρυσούλα Φλώρου
Ημερομηνία γέννησης: 17/02/1987
Τόπος γέννησης: Αθήνα
Υπηκοότητα: Ελληνική
Διεύθυνση οικίας:
Τηλέφωνα οικίας:
Διεύθυνση εργασίας: Ιδιωτικό ιατρείο : Τιμοθέου 8 , 11634, Αθήνα.
Εργαζόμενη στην EyeDayClinic, Βασ.Σοφίας 64
11528, Αθήνα
Ηλεκτρονικό ταχυδρομείο: xrysoulaflwrou@hotmail.com
Κινητό τηλέφωνο: 6976216330

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ - ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ - ΤΙΤΛΟΙ ΣΠΟΥΔΩΝ – ΑΔΕΙΕΣ

Εγκύκλιες σπουδές

2003: Νικήτρια μαθητικού, πανευρωπαϊκού διαγωνισμού γενικών γνώσεων Euroscola, Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο, Στρασβούργο

2004: Αποφοίτηση από το 3ο Ενιαίο Λύκειο Ζωγράφου με βαθμό Άριστα (19.6/20.0)

Προπτυχιακή εκπαίδευση

2004-2010: Φοίτηση στην Ιατρική Σχολή Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (ΕΚΠΑ)

Πτυχία - διπλώματα - άδειες

08.2010: Λήψη Πτυχίου Ιατρικής από την Ιατρική Σχολή του ΕΚΠΑ Βαθμός πτυχίου: Λίαν καλώς (7,33/10.0)

08.2010: Λήψη Άδειας Άσκησης Ιατρικού Επαγγέλματος (αρ. Πρωτ 15961/17.08.2010, Νομαρχία Αθηνών)

05.2018: Λήψη Ευρωπαϊκού Διπλώματος της Οφθαλμολογίας (Παρίσι, Γαλλία)

01.2019: Λήψη τίτλου ειδίκευσης στην Οφθαλμολογία μετά από εξετάσεις (αρ. Πρωτ.: 10808/12.07.2018 , Διεύθυνση Δημόσιας Υγείας και Κοινωνικής Μέριμνας- Περιφέρεια Αττικής)

ΕΙΔΙΚΕΥΣΗ ΣΤΗΝ ΟΦΘΑΛΜΟΛΟΓΙΑ

05.2011-10.2014: Εκπαίδευση στην Οφθαλμολογία ως ειδικευόμενη ιατρός στην κλινική Links vom Rhein, Κολωνία, Γερμανία

11.2014 -05.2016: Εκπαίδευση στην Οφθαλμολογία ως ειδικευόμενη ιατρός στο Γενικό Νοσοκομείο «Παιδων Πεντέλης», (Διευθύντρια κα. Κοκολάκη Άννα)

05.2016-02.2019: Συνέχιση εκπαίδευσης στην Οφθαλμολογία ως ειδικευόμενη ιατρός στο ΓΝΑ Γ. Γεννηματάς, Α' Πανεπιστημιακή Οφθαλμολογική Κλινική

02.2019-08.2021: Εργασία ως ειδικευμένη επικουρική ιατρός με την ειδικότητα της Οφθαλμολογίας στο Κ.Υ. Γλυφάδας

09.2021-σήμερα: Απασχόληση σε ιδιωτικό ιατρείο και Eye Day Clinic

ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΕΣ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

1) Florou C, Aissopou E, Chalkiadaki E, Andreanos K, Koutsandrea C, Papaconstantinou D, Georgalas I. Corneal endothelial cells and central corneal thickness in patients with neurofibromatosis type 1. Indian J Ophthalmol. 2021 Jun;69(6):1522-1526.

2) Florou C, Aissopou E, Papaconstantinou E, Georgalas I, Droutsas K. Conjunctival Marginal Zone Lymphoma in a Patient With Neurofibromatosis Type 1: A Case Report”, Cureus Journal of medical Science, Publ. Date 27/11/2023, DOI: 10.7759/cureus.49491.

3) Florou C, Andreanos K, Georgakoulias N, Espinosa E, Papakonstantinou E, Georgalas I, Rotsos T. Acute Visual Loss Secondary to Arnold Chiari Type I Malformation Completely Resolving After Decompressive Posterior Fossa Surgery. Int Med Case Rep J. 2020 Nov 18;13:657-661.

4) Chalkiadaki E, Andreanos K, **Florou C**, Droutsas K, Maniou C, Amfilochiou A, Georgalas I, Papaconstantinou D, Koutsandrea C. Corneal Endothelial Morphology and Thickness Alterations in Patients With Severe Obstructive Sleep Apnea-Hypopnea Syndrome. Cornea. 2021 Jan;40(1):73-77.

5) Chalkiadaki E, Andreanos K, Karmiris E, **Florou C**, Tsiafaki X, Amfilochiou A, Georgalas I, Koutsandrea C, Papaconstantinou D. Ganglion cell layer thickening in patients suffering from Obstructive Sleep Apnea-Hypopnea syndrome with long Mean Apnea-Hypopnea Duration during sleep. Int Ophthalmol. 2021 Mar;41(3):923-935.

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ/ ΔΕΞΙΟΤΗΤΕΣ

ECDL (2010)

Αγγλικά (Proficiency). Γαλλικά (Delf εως A6). Γερμανικά (B2)

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε κατά το χρονικό διάστημα από τον Νοέμβριο του 2017 έως τον Δεκέμβριο του 2023 στην Α Πανεπιστημιακή Οφθαλμολογική Κλινική του τμήματος Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του ΕΚΠΑ υπό την επίβλεψη αρχικά της Καθηγήτριας Οφθαλμολογίας Χρυσάνθης Κουτσανδρέα και στη συνέχεια του Καθηγητή Οφθαλμολογίας Δημητρίου Παπακωνσταντίνου.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την αφυπηρετήσασα Καθηγήτρια Χρυσάνθη Κουτσανδρέα για την ένταξη μου στην ομάδα της, αρχικά ως ειδικεύομενη Ιατρό Οφθαλμολογίας και στη συνέχεια ως υποψήφια διδάκτορα. Το ερευνητικό της ενδιαφέρον, ο ζήλος και η αγάπη της για την Οφθαλμολογία αποτελούν για εμένα πάντα οδηγό και κίνητρο για να γίνομαι καλύτερη γιατρός. Την ευχαριστώ πολύ για όλες τις ευκαιρίες που μου έδωσε και για τη δυνατότητα να εκπονήσω αυτή τη διατριβή.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τους καθηγητές Δημήτριο Παπακωνσταντίνου, Ηλία Γεωργάλα και Κωνσταντίνο Δρούτσα για την ένθερμη υποστήριξη τους και την πολύτιμη καθοδήγηση σε κάθε μου βήμα.

Οφείλω επίσης ένα πολύ μεγάλο ευχαριστώ στους πολύτιμους φίλους και εξαιρετικούς συναδέλφους Ευαγγελία Αισώπου, Χαλκιαδάκη Ευαγγελία, Χατζηδημητρίου Χρυσοβαλάντω, Αικατερίνη Μάνη, Ανδρομάχη Ραπάνου, Στυλιανό Μπλούνα, Αριστεΐδη Μαντζούνη, Αικατερίνη Χατζημιχάλη, Ειρήνη Μπουτούρη και Στυλιανή Μπλαζάκη για τη συνεισφορά τους στην ολοκλήρωση της παρούσας διατριβής.

Τέλος, ευχαριστώ τους γονείς μου για την υποστήριξη με κάθε τους δύναμη, που λαμβάνω σε όλες μου τις επιλογές. Η διδακτορική αυτή διατριβή αφιερώνεται σ' αυτούς, τις αδερφές μου και τους αγαπημένους μου Θύμιο, Μαριάννα και Άγγελο.

Χρυσούλα Φλώρου

Αθήνα, Δεκέμβριος 2023

A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Εισαγωγή-Νευροϊνωμάτωση τύπου 1

Η νευροϊνωμάτωση θεωρείται μια από τις πολυσυστηματικές κληρονομικές νόσους που περιλαμβάνουν την οζώδη σκλήρυνση, τη νόσο von Hippel-Lindau, το σύνδρομο Sturge-Weber και την αταξία τηλεαγγειεκτασία (1) η οποία προστέθηκε το 1941. Με την πάροδο των ετών, περισσότερα από 60 νευροδερματικά σύνδρομα έχουν περιγραφεί στη βιβλιογραφία. Αυτή η ετερογενής ομάδα ασθενειών έχει εναλλακτικά οριστεί ως φακοματώσεις, νευροδερματικά σύνδρομα, σύνδρομα προδιάθεσης όγκου και εξωδερμική δυσπλασία από διαφορετικούς συγγραφείς κατά τη διάρκεια των χρόνων (2). Επίσης, αποτελεί μια ετερογενή ομάδα κληρονομικών συνδρόμων, που οδηγούν σε ογκογένεση στο

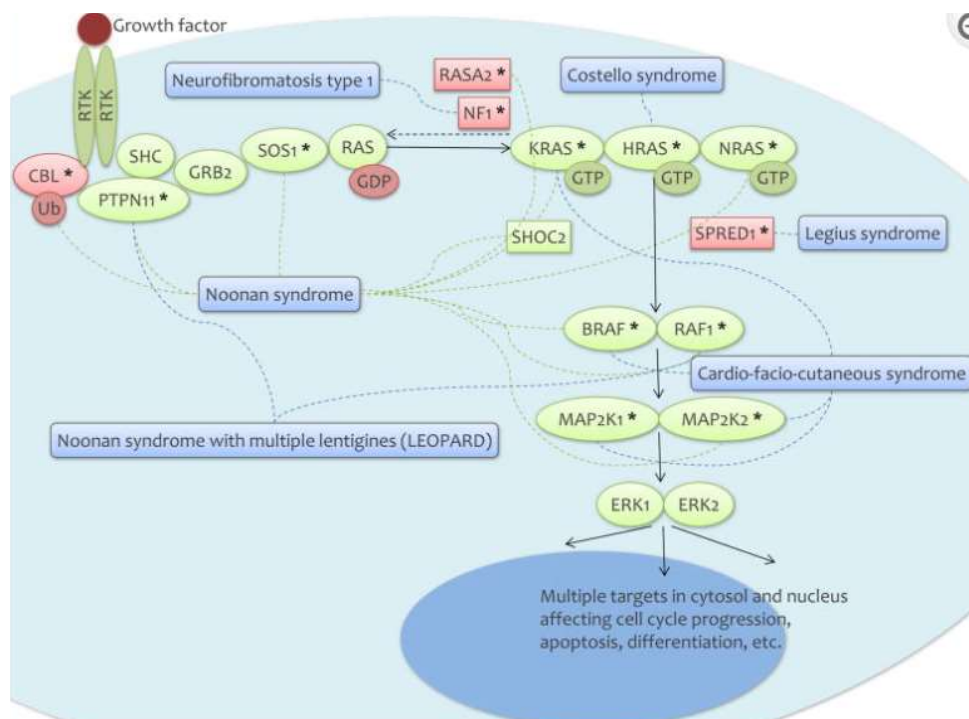


Εικόνα 1: Η απεικόνιση της NF1 στη ζωγραφική (15ος αιώνας) (3)

κεντρικό και περιφερικό νευρικό σύστημα. Χωρίζεται σε νευροϊνωμάτωση τύπου I (Neurofibromatosis type 1-NF1), τύπου II (NFII) και σβαννωμάτωση. Δεν παρουσιάζει συγκεκριμένη προτίμηση φύλου ή φυλής. Η NF1, με ποσοστό 96% επί

του συνόλου των περιπτώσεων αποτελεί τη συχνότερη μορφή της νόσου και αποτελεί το κύριο αντικείμενο μελέτης μας.

Η NF1, γνωστή από τον 15ο αιώνα (**Εικόνα 1**) (3), συνήθως αναφέρεται ως νόσος von-Recklinghausen ή περιφερική νευροϊνωμάτωση, κληρονομείται με αυτοσωματικό επικρατή τρόπο με ουσιαστικά 100% διείσδυση και αυτόματες μεταλλάξεις υπεύθυνες για το 50% των περιπτώσεων (4), συναντάται συχνά στην κλινική πράξη (5) επηρεάζοντας 1 στις 2,500 γεννήσεις (6). Οφείλεται σε ετερόζυγη μετάλλαξη στο γονίδιο της νευροφιμπρομίνης στο χρωμόσωμα 17 (17q11.2), ενώ το 50% των περιπτώσεων οφείλονται σε de novo μεταλλάξεις του γονιδίου. Η νευροφιμπρομίνη εκφράζεται κυρίως στους νευρώνες, στα κύτταρα του Schwann χωρίς μυελίνη, στα αστροκύτταρα, λευκοκύτταρα και ολιγοδενδροκύτταρα (7, 8). Οι NF1 ασθενείς παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης κακοηθειών εξαιτίας της



Εικόνα 2: Το μονοπάτι Ras/MAPK (9)

απώλειας λειτουργίας του ογκοκατασταλτικού γονιδίου που κωδικοποιεί τη νευροφιμπρομίνη, μια σημαντική πρωτεΐνη στο RAS/ενεργοποιημένης από τη

μιτογόνο πρωτεϊνική κινάση (MAPK) μονοπάτι (10). Η μη λειτουργική νευροφιμπρομίνη αυξάνει την ενεργή μορφή RAS-GTP που με τη σειρά της προωθεί την υπερβολική ανάπτυξη των κυττάρων καταλήγοντας στην απορρύθμιση και την ογκογένεση (9, 11) (Εικόνα 2).

Η διάγνωση της νευροϊνωμάτωσης τύπου I βασίστηκε στην παρουσία τουλάχιστον 2 ή περισσότερων από τα 7 κλινικά κριτήρια (Εικόνα 3) (12) που έχουν καθοριστεί από το Εθνικό Ινστιτούτο Υγείας και περιλαμβάνουν: 6 ή περισσότερες café au lait κηλίδες πάνω από 5mm σε μέγιστη διάμετρο σε άτομα προεφηβικής ηλικίας και πάνω από 15mm σε μετεφηβικής ηλικίας ασθενείς, φακίδες πάνω από τις μασχालιαίες και βουβωνικές περιοχές, δύο ή περισσότερα οζίδια του Lisch (αμαρτώματα ίριδας), δύο ή περισσότερα νευρινώματα ή ένα δικτυωτό νευρίνωμα, γλοιώμα της οπτικής οδού, χαρακτηριστική σκελετική δυσπλασία (δυσπλασία σφηνοειδούς πτέρυγας, δυσπλασία μακρών οστών) και πρώτου βαθμού συγγενείς με NF1 (13).

1. Six or more café-au-lait macules over 5 mm in greatest diameter in prepubertal individuals and over 15 mm in greatest diameter in postpubertal individuals
2. Two or more neurofibromas or 1 plexiform neurofibroma
3. Axillary or inguinal freckling
4. Optic pathway glioma
5. Two or more Lisch nodules
6. Characteristic skeletal dysplasia (sphenoid wing dysplasia, long-bone dysplasia)
7. An affected first-degree relative diagnosed by the above criteria

* At least 2 must be present.

Εικόνα 3: Διαγνωστικά κριτήρια NF1 (12)

Οι NF1 ασθενείς παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης νεοπλασιών (όγκοι κεντρικού νευρικού συστήματος, ραβδομυοσάρκωμα, όγκοι πεπτικού, λευχαιμία,

φαιοχρωμοκύττωμα, Ca μαστού) (14, 15) λόγω απώλειας της προστατευτικής ογκοκατασταλτικής δράσης της νευροφιμπρομίνης.

1.1. Επιδημιολογία-αιτιολογία και παθογένεση

Η NF1 είναι μια από τις πιο κοινές γενετικές ασθένειες που επηρεάζει 1 στα 2,500 άτομα παγκοσμίως, ανεξαρτήτως φύλου και εθνικής προέλευσης (16). Είναι μια αυτοσωμική επικρατούσα διαταραχή που προκαλείται από έλλειμμα σε ένα μόνο γονίδιο (17). Ο νέος ρυθμός μετάλλαξης του γονιδίου NF1 είναι 1:10.000 (18) και αποτελεί έναν από τους υψηλότερους οποιουδήποτε γονιδίου, επομένως περίπου οι μισές από τις NF1 περιπτώσεις είναι σποραδικές μεταλλάξεις (19).

Το γονίδιο NF1, εντοπισμένο στο χρωμόσωμα 17q11.2 στο τέλος της δεκαετίας του 1980 και κλωνοποιημένο στις αρχές της δεκαετίας του 1990, είναι ένα από τα μεγαλύτερα γονίδια στο οποίο μεταλλάξεις οδηγούν σε ασθένειες στον άνθρωπο (20). Αρκετά χαρακτηριστικά του NF1 γονιδίου, όπως το μεγάλο μέγεθός του, η ύπαρξη ψευδογονιδίων, η έλλειψη ομαδοποίησης των μεταλλάξεων σε μια συγκεκριμένη περιοχή του γονιδίου και η μεγάλη ποικιλία πιθανών βλαβών καθιστούν την ανίχνευση μεταλλάξεων περίπλοκη, ωστόσο πλέον υπάρχει άμεσος γενετικός έλεγχος που επιτρέπει την ανίχνευση μεταλλάξεων σε πάνω από 95% των τυπικών NF1 ασθενών (21). Η διάγνωση της NF1 είναι κλινική, ο γενετικός έλεγχος γίνεται μόνο σε περιπτώσεις λήψης απόφασης ή σε ασυνήθιστες περιπτώσεις που υπάρχει υποψία αλλά όχι κλινική επιβεβαίωση της διάγνωσης (22).

Το NF1 γονίδιο κωδικοποιεί τη νευροφιμπρομίνη, μια κυτταροπλασματική πρωτεΐνη που λειτουργεί ως αρνητικός ρυθμιστής του Ras πρωτοογκογονιδίου, ένα βασικό μόριο σηματοδότησης στον έλεγχο της κυτταρικής ανάπτυξης (23). Οι περισσότερες μεταλλάξεις του NF1 γονιδίου παράγουν μια

περικομμένη μορφή της νευροφιμπρομίνης και διακόπτουν τη φυσιολογική ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου. Αυτό μπορεί να εξηγήσει γιατί οι NF1 ασθενείς έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης καλοηθών και κακοηθών όγκων (22).

Ένα μεμονωμένο κύτταρο μπορεί να λειτουργήσει με ένα μόνο φυσιολογικό αντίγραφο του γονιδίου, όταν όμως συμβεί μια δεύτερη σωματική μετάλλαξη σε επιλεγμένα κύτταρα, χάνεται εντελώς η λειτουργία του γονιδίου (απώλεια ετεροζυγωτίας) και εμφανίζονται τα κλινικά χαρακτηριστικά της νόσου λόγω απώλειας της φυσιολογικής ρύθμισης του κυτταρικού κύκλου (24). Μεταλλάξεις στο NF1 μπορεί επίσης να συμβούν κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης οδηγώντας σε σωματικό μωσαϊκισμό. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία τμηματικού NF1 φαινοτύπου όπου τα χαρακτηριστικά ευρήματα περιορίζονται σε ένα μέρος του σώματος (25). Η τμηματική NF1 είναι λιγότερο συχνή από τη NF1, επηρεάζοντας 1 στα 36.000-40.000 άτομα (25). Οι ασθενείς με τμηματική NF1 δε μεταδίδουν την ασθένεια στους απογόνους τους, εκτός εάν έχει επίσης προσβληθεί και η βλαστική σειρά.

1.2. Δερματικές αλλοιώσεις

Οι café au lait κηλίδες και οι φακίδες συναντώνται συχνά στους NF1 ασθενείς. Οι café au lait κηλίδες (Εικόνα 4) (26) δεν υπάρχουν κατά τη γέννηση αλλά εμφανίζονται περίπου στο πρώτο έτος της ηλικίας. Είναι χρωστικές αλλοιώσεις του δέρματος με ομοιόμορφη μελάγχρωση και καλά καθορισμένα όρια. Οι φακίδες ανευρίσκονται στο 80% των ασθενών κάτω των 6 ετών και στο 90% των ενηλίκων άνω των 30 ετών (27). Εμφανίζονται σαν μικρές φακίδες μικρότερες από 5mm σε μέγεθος και εντοπίζονται συχνά στη μασχαλαία ή βουβωνική περιοχή (Crowes σημείο).



Εικόνα 4: Café au lait κηλίδες σε 9χρονο NF1 ασθενή ([26](#))

Τα νευρινώματα ανευρίσκονται σε όλους σχεδόν τους NF1 ασθενείς άνω των 30 ετών, εντοπίζονται κυρίως κατά μήκος του κορμού, με το 20% να βρίσκεται στο κεφάλι και το λαιμό ([28](#)). Χωρίζονται σε δερματικά, υποδόρια και δικτυωτά (**Εικόνα 5**) ([12](#)), τα τελευταία εμφανίζονται στο 20-30% των περιπτώσεων ([28](#), [29](#)). Ιστολογικά, προέρχονται από κύτταρα του Schwann, μη νεοπλασματικά κύτταρα δίκην ινοβλαστών, μαστοκύτταρα και μακροφάγα, ενδοθηλιακά και περινευρικά κύτταρα ([30](#)).



Εικόνα 5: Δικτυωτό νευρίνωμα αριστερού οφθαλμού που προκαλεί "σχήματος S" βλεφαρόπτωση ([12](#))

Κλινικά, τα δερματικά νευρινώματα είναι ασυμπτωματικοί, μαλακοί και χρώματος καφέ όγκοι που ποικίλλουν σε μέγεθος από λίγα χιλιοστά έως και μερικά εκατοστά. Τα υποδόρια χαρακτηρίζονται από σταθερότητα, ευαισθησία στο χειρισμό και μέγεθος περίπου 3-4cm. Τα δικτυωτά παρουσιάζουν κοινά χαρακτηριστικά με τους υπόλοιπους τύπους αλλά είναι πιο επιρρεπή στη μετατροπή σε κακοήθεις όγκους του νευρικού ελύτρου (7-13% των περιπτώσεων, επίσης γνωστοί και ως MPNST όγκοι) όπως το νευροϊνοσάρκωμα ή το κακόηθες σβάννωμα. Με την ηλικία, αυτοί οι όγκοι μπορεί να αυξηθούν και να αποκτήσουν σημαντικό μέγεθος που ίσως σωματικά εμποδίζουν τη λειτουργικότητα. Έχουν αναφερθεί τέτοια περιστατικά στα βλέφαρα.

1.3. Συστηματικές και σκελετικές αλλοιώσεις

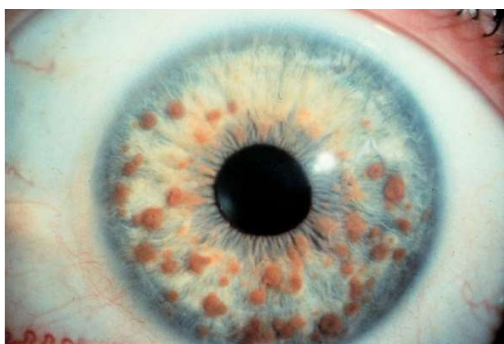
Έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία συμμετοχή του καρδιαγγειακού συστήματος στους NF1 ασθενείς. Πιο συγκεκριμένα περιλαμβάνεται υπέρταση λόγω στένωσης της νεφρικής αρτηρίας, στένωση πνευμονικής βαλβίδας, κλαδική περιφερική πνευμονική στένωση, κολπικά και κοιλιακά ελλείμματα διαφράγματος, συγγενής καρδιοπάθεια, λιγότερο συχνά φαιοχρωμοκυττώματα, αορτική στένωση (θωρακική και κοιλιακή) και υπερτροφική μυοκαρδιοπάθεια ([31](#)). Σπάνιες συστηματικές αλλοιώσεις της NF1 περιλαμβάνουν νευρογνωστικά ελλείμματα ποικίλης σοβαρότητας στο 60% των περιπτώσεων, λευχαιμία και λέμφωμα ([22](#)).

Στη NF1, μπορεί να ανευρεθούν διάφορες σκελετικές ανωμαλίες όπως σκολίωση (10-15% των ασθενών), λέπτυνση των μακρών οστών, απουσία της μείζονος πτέρυγας του σφηνοειδούς οστού (1-6%) και ψευδοάρθρωση της κνήμης.

1.4. Οφθαλμολογικές εκδηλώσεις

1.4.α. Πρόσθιο ημιμόριο

Οι NF1 ασθενείς έχουν ελλείμματα στους ιστούς που προέρχονται από τη νευρική ακρολοφία οδηγώντας σε ένα ευρύ φάσμα κλινικών εκδηλώσεων που περιλαμβάνουν αναπτυξιακά προβλήματα, διαταραχές μελάγχρωσης ή νεοπλασματικές στο δέρμα, στο νευρικό σύστημα, στα οστά, στα ενδοκρινή όργανα, στα αγγεία και στους οφθαλμούς (32). Τα οζίδια του Lisch, το πιο συχνό χαρακτηριστικό του



Εικόνα 6: Οζίδια Lisch (18)

πρόσθιου ημιμορίου (Εικόνα 6) (12, 18), τα γλοιώματα της οπτικής οδού και τα δικτυωτά νευρινώματα περιλαμβάνονται στα διαγνωστικά κριτήρια της NF1 (13). Ιστολογικά, τα οζίδια του Lisch περιέχουν ακανόνιστες συλλογές ατρακτοειδών κυττάρων (33). Είναι πιο συχνά στις οικογενείς (93%) από ότι στις σποραδικές περιπτώσεις (54%) (34) και συχνότερα παρατηρούνται στο κατώτερο ήμισυ της ίριδας (35). Δεν επηρεάζουν την όραση ούτε προκαλούν άλλο ιατρικό πρόβλημα, ωστόσο έχουν σπουδαία διαγνωστική αξία αφού είναι ειδικά για τη NF1, σε αντίθεση

με τις café au lait κηλίδες. Η παρουσία τους σχετίζεται με την ηλικία και όχι με τη σοβαρότητα της νόσου, τον αριθμό των νευρινωμάτων ή των café au lait κηλίδων.

Σύμφωνα με τη μελέτη του Akinçi και συνεργατών (36), η επίπτωση της μυωπίας ήταν 23.1% σε 82 NF1 ασθενείς, 23.8% σε 21 NF2 και 16.5% σε 103 ματσαρισμένους ως προς την ηλικία και φύλο υγιείς. Ενώ, η επίπτωση της υπερμετρωπίας και του αστιγματισμού δε διέφερε μεταξύ των ομάδων, καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι ένα επιπλέον χαρακτηριστικό της NF1 και NF2 είναι η αυξημένη συχνότητα μυωπίας.

Το ενδοθήλιο του κερατοειδούς, αποτελεί το στρώμα με τη χαμηλότερη μιτωτική δραστηριότητα (37) και εμβρυολογικά προέρχεται από τη νευρική ακρολοφία. Με δεδομένο τη σπουδαιότητα της λειτουργίας αυτού του στρώματος, η καταστροφή αυτού δυνητικά οδηγεί σε απώλεια κυττάρων και μη αναστρέψιμη καταστροφή του ενδοθηλιακού κυτταροσκελετού με άμεσες επιζήμιες αλλοιώσεις της οπτικής λειτουργίας (38). Η χαρακτηριστική υπερτροφία των ενδοστρωματικών νευρών του κερατοειδούς, γνωστή ως "γκρίζες γραμμές" (lignes grises) επίσης σχετίζεται με τη NF1 (2). Πρόσφατα, βρέθηκε ανώμαλο μήκος των ινιδίων κολλαγόνου του κερατοειδούς σε NF1 ασθενείς, συμπεραίνοντας ότι ίσως είναι συχνή η νευροπάθεια μικρών ινιδίων σε αυτό τον πληθυσμό (39).

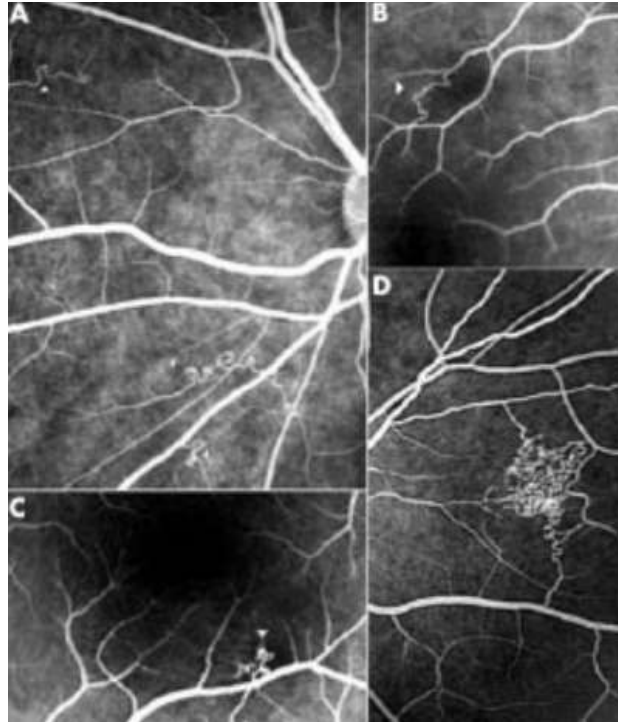
Σπάνιες εκδηλώσεις του προσθίου ημιμορίου αποτελούν τα νευρινώματα του επιπεφυκότα που συναντώνται στο 2% των NF1 ασθενών και συνηθίζουν να επηρεάζουν τον επιπεφυκότα στο σκληροκερατοειδές όριο (40). Τέλος, έχει περιγραφεί μια περίπτωση NF1 ασθενούς με κακόηθες μελάνωμα του επιπεφυκότα (41).

Αν και οι NF1 ασθενείς εμφανίζουν αυξημένο κίνδυνο να αναπτύξουν γλαύκωμα (2), ωστόσο δεν αποτελεί συχνό εύρημα αφού συμβαίνει στο 1-2% των

περιπτώσεων (28). Μια αύξηση στην ενδοφθάλμια πίεση μπορεί να οφείλεται σε συνδυασμό μηχανισμών, όπως ανωμαλίες της γωνίας, χρωστικές διαταραχές αυτής, δευτεροπαθές κλείσιμο της γωνίας από πρόσθιες συνέχειες και νευροϊνωματώδη διήθηση της εκροής του υδατοειδούς υγρού (42). Στις περισσότερες περιπτώσεις, το γλαύκωμα σχετίζεται με ομόπλευρο δικτυωτό νευρίνωμα του άνω βλεφάρου (43) και αυτοί οι ασθενείς μπορεί να αναπτύξουν βούφθαλμο δευτεροπαθές από το μονόπλευρο γλαύκωμα. Η τριάδα (α) μονόπλευρος βούφθαλμος, (β) ομόπλευρο δικτυωτό νευρίνωμα βλεφάρου και (γ) ομόπλευρη ημιυπερτροφία προσώπου μερικές φορές αναφέρεται ως σύνδρομο Francois (44). Το ραγοειδικό εκτρόπιο είναι ένα συχνό εύρημα στους NF1 ασθενείς με συμμετοχή του κόγχου και του προσώπου και συμβαίνει σε πάνω από τους μισούς ασθενείς με γλαύκωμα (45).

1.4.β. Οπίσθιο ημιμόριο

Η NF1 σπάνια επηρεάζει τον αμφιβληστροειδή, ωστόσο μερικές εκδηλώσεις έχουν περιγραφεί. Τα αστροκυτταρικά αμαρτώματα είναι όγκοι δίκην μούρου που εντοπίζονται στον επιφανειακό αμφιβληστροειδή και οπτικό νεύρο, και αν και τυπικά εμφανίζονται στην οζώδη σκλήρυνση, έχουν επίσης περιγραφεί σε NF1 ασθενείς (46). Άλλες αλλοιώσεις περιλαμβάνουν τα τριχοειδή αιμαγγειώματα καθώς και τα συνδυασμένα αμαρτώματα του αμφιβληστροειδούς και τους μελαγχρόου επιθηλίου αυτού (46). Επίσης, έχουν περιγραφεί στο ένα τρίτο των NF1 ασθενών αγγεία δίκην τριμπουσόν πάνω από χοριοειδικά οζίδια (Εικόνα 7) (47, 48). Μια πρόσφατη μελέτη



Εικόνα 7 : Κολλάζ φωτογραφιών από φλουροαγγειογραφίες ασθενών με NF1 όπου απεικονίζεται ένα ευρύ φάσμα αμφιβληστροειδικών αγγειακών ανωμαλιών δίκην τιρμπουσόν (48)

περιέγραψε ανωμαλίες των αγγείων του αμφιβληστροειδούς στο 6.1% των NF1 ασθενών (49).

Η συμμετοχή του χοριοειδούς στη NF1, με την ανάπτυξη νέων απεικονιστικών μεθόδων που μπορούν να διεισδύσουν μέσα από το μελάγχρουν επιθήλιο του αμφιβληστροειδούς, όπως η αγγειογραφία με πράσινο ινδοκυανίνης, μπορούν να αναδείξουν τις χοριοειδικές αλλοιώσεις σε αυτό τον πληθυσμό που παλαιότερα λόγω έλλειψης της κατάλληλης τεχνολογίας υποεκτιμούνταν. Κύριο χαρακτηριστικό αποτελεί ο υποφθορισμός στις πρώιμες φάσεις της αγγειογραφίας (50, 51). Με τη χρήση της μη επεμβατικής αντανάκλασης κοντά στο υπέρυθρο, οι Viola και συνεργάτες βρήκαν ότι το 82% των ασθενών με NF1 και το 71% των παιδιών με NF1 (12 ετών ή νεότερα) είχαν οζίδια χοριοειδούς (52). Αξιοσημείωτο

είναι ότι η επίπτωση αυτή είναι υψηλότερη από την ανίχνευση ύπαρξης οξιδίων του Lisch στα παιδιά (κάτω των 10 ετών) με NF1 (53%) (35). Με δεδομένη την εύκολη πλέον ανίχνευση των χοριοειδικών αλλοιώσεων, τα ποσοστά των NF1 με ευρήματα από τον χοριοειδή είναι τόσο υψηλά, ώστε έχει προταθεί να περιληφθεί στα διαγνωστικά κριτήρια της νόσου (51, 52).

1.4.γ. Οπτικό νεύρο

Τα γλοιώματα της οπτικής οδού αποτελούν τη πιο συχνή κογχική και ενδοκράνια εκδήλωση στη NF1 (17) και συμβαίνουν στο 5-25% των περιπτώσεων (53). Αυτοί οι όγκοι ταξινομούνται από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας ως αστροκυττώματα σταδίου I (54) ή νεανικά πιλοκυτταρικά αστροκυττώματα (55) και ιστολογικά είναι πανομοιότυπα με τα πιλοκυτταρικά αστροκυττώματα που αναπτύσσονται οπουδήποτε στον εγκέφαλο σε παιδιά χωρίς NF1 (56). Μπορούν να επηρεάσουν οποιοδήποτε τμήμα πρόσθια και οπίσθια της οπτικής οδού - το οπτικό νεύρο, το χίασμα και τον υποθάλαμο (57). Σε μια μελέτη, το 34.8% όλων των NF1 ασθενών είχαν αμφοτερόπλευρα γλοιώματα της οπτικής οδού (58). Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι, παιδιά με NF1 μπορούν να εμφανίσουν γλοιώματα και εκτός οπτικής οδού, πιο συχνά στο εγκεφαλικό στέλεχος (59) και επομένως προσέρχονται στον οφθαλμίατρο με κraniaκές νευροπάθειες, πονοκεφάλους και άλλες νευρολογικές εκδηλώσεις.

1.4.δ. Εξαρτήματα του οφθαλμού

Ένα άλλο χαρακτηριστικό εύρημα των NF1 ασθενών είναι τα δικτυωτά νευρινώματα. Αποτελούνται από νεοπλασματικά κύτταρα του Schwann, ινοβλάστες, περινευρικά κύτταρα και μαστοκύτταρα ακολουθώντας την κατανομή του τριδύμου

νεύρου (60). Ο όγκος μπορεί να περιλαμβάνει το άνω βλέφαρο, το φρύδι, τον κόγχο και τον κρόταφο και μπορεί να πάρει τεράστιες διαστάσεις προκαλώντας παραμόρφωση του προσώπου και κατ' επέκταση μείωση της αυτοπεποίθησης του ατόμου και κοινωνική απομόνωση (61). Ο ρυθμός ανάπτυξης του όγκου τείνει να είναι ταχύτερος στην παιδική, εφηβική ηλικία και κατά την εγκυμοσύνη και μικρότερος με την αύξηση της ηλικίας (62). Η χαρακτηριστική εισβολή του όγκου στις γειτονικές δομές καθιστά μερικές φορές αδύνατη τη χειρουργική του αφαίρεση (63).

Η αρχική εμφάνιση είναι τυπικά πριν την ηλικία των 5 ετών, με πτώση (πιο συχνό), οίδημα βλεφάρου, πρόπτωση, κογχική δυστοπία, στραβισμό και μειωμένη οπτική οξύτητα (64). Η διήθηση του βλεφάρου από τον όγκο, μεγαλύτερη τυπικά πλευρικά, θα προκαλέσει πτώση "δίκην σχήματος S", ακόμα και αποκόλληση του σύστοιχου κανθού (65), αλλά η κογχική ή περικογχική επέκταση είναι απίθανη όταν μόνο το άνω βλέφαρο εμπλέκεται (περίπου 1/3 όλων των δικτυωτών νευρινωμάτων) (60). Η κλασσική περιγραφή της βλάβης κατά την ψηλάφηση είναι "έναν ασκός από σκουλήκια" (61). Η βιοψία της βλάβης δε χρειάζεται σε παιδιά με NF1, ωστόσο πρέπει να πραγματοποιείται μαγνητική εγκεφάλου και κόγχων ώστε να προσδιορίζεται η έκταση του όγκου. Η πτώση μπορεί να οδηγήσει σε δευτεροπαθή στέρωση της όρασης και ανισομετρική αμβλυωπία (66). Η αμβλυωπία είναι η πιο συχνή αιτία μειωμένης οπτικής οξύτητας σε παιδιά με δικτυωτά νευρινώματα (67), συμβαίνει σε περισσότερα από τα μισά παιδιά και μπορεί να είναι είτε διαθλαστική, είτε αποστέρησης ή λιγότερο συχνά στραβισμική (60).

Η σκελετική δυσπλασία είναι ένα άλλο χαρακτηριστικό στη NF1. Στο 38% των NF1 ασθενών αναφέρονται οστικές διαταραχές με πιο συχνή τη σκολίωση (68). Ένα χαρακτηριστικό εύρημα στο κόγχο ασθενών με NF1 είναι η μονόπλευρη

δυσπλασία/απλασία της σφηνοειδούς πτέρυγας που αποτελεί έλλειμμα ή απουσία της μείζονος σφηνοειδούς πτέρυγας και συμβαίνει στο 1-6% των NF1 ασθενών (22). Ως αποτέλεσμα, ο μετωποκροταφικός λοβός μπορεί να εισέλθει ως κήλη μέσα στον κόγχχο, οδηγώντας σε παλμικό εξόφθαλμο (69).

1.5. Θεραπευτική αντιμετώπιση

1.5.α. Δικτυωτά νευρινώματα

Το χειρουργείο αποτελεί τη βασική μέθοδο αντιμετώπισης των κογχικών και περικογχικών δικτυωτών νευρινωμάτων, ωστόσο αναφέρεται υψηλό ποσοστό υποτροπών και επιπλοκών λόγω της αγγείωσης του όγκου και του γεγονότος ότι δεν περιλαμβάνεται από κάψα και επομένως έχει την τάση να ενσωματώνεται στους γειτονικούς μαλακούς ιστούς (70). Επομένως, νεοδιαγνωσθέντα δικτυωτά νευρινώματα είναι καλύτερα να ακολουθήσουν συντηρητική διαχείριση με στενή παρακολούθηση και διαδοχικές μαγνητικές τομογραφίες (60).

Τρεις είναι οι ομάδες ταξινόμησης των δικτυωτών νευρινωμάτων σύμφωνα με τον Jackson (1993) και αργότερα την ανασκόπηση του Gandhi (66): (α) συμμετοχή των μαλακών ιστών του κόγχου με οφθαλμό που βλέπει, (β) συμμετοχή μαλακών ιστών και οστού του κόγχου με οφθαλμό που βλέπει, (γ) συμμετοχή μαλακών ιστών και οστών του κόγχου με τυφλό ή απόντα οφθαλμό. Κάθε κατηγορία απαιτεί διαφορετική χειρουργική αντιμετώπιση (62). Ο χειρουργικός χρόνος για χειρουργική επέμβαση παραμένει αμφιλεγόμενος. Η κλινική επέκταση που προκαλεί αμβλυωπία και παραμόρφωση του προσώπου αποτελούν ενδείξεις χειρουργικής αντιμετώπισης (66). Άλλες λιγότερο συχνές ενδείξεις είναι έκθεση του κερατοειδούς και η οπτική νευροπάθεια (60). Η μετάπτωση σε κακοήθεια είναι πιο συχνή στους ενήλικες, με την ακτινοβολία στην κογχική περιοχή να αποτελεί παράγοντα κινδύνου

(71). Παρότι η χειρουργική αποτελεί τη σπάνια αντιμετώπιση, νέες θεραπείες μελετώνται όπως η εβδομαδιαία υποδόρια ένεση πεγκυλιωμένης ιντερφερόνης άλφα-2b (αντική θεραπεία κυτοκίνης) (72) και ιματινίμπης (αναστολέας της τυροσινικής κινάσης) (73)

1.5.β. Γλοιώματα οπτικής οδού

Η θεραπεία των γλοιωμάτων της οπτικής οδού δεν μπορεί να συνοψιστεί σε έναν αλγόριθμο λόγω της σημαντικής κλινικής ποικιλομορφίας τους. Ο ιδανικός χρόνος και μέθοδος επιλογής για την αντιμετώπιση τους παραμένει αμφιλεγόμενος. Επιπλέον, αφού μόνο πάνω από τα μισά θα προκαλέσουν κλινικά συμπτώματα, η αρχική αντιμετώπιση σε πολλές περιπτώσεις θα περιλαμβάνει προσεκτική παρακολούθηση μόνο (74). Αν και οι ενδείξεις για αντιμετώπιση ποικίλουν, όταν υπάρχει κλινική ή απεικονιστική επιδείνωση ή και τα δυο (75) στα περισσότερα κέντρα σκέπτονται για θεραπεία. Πολλοί επίσης πιστεύουν ότι θεραπεία δεν πρέπει να αρχίσει αν δεν υπάρχουν αλλαγές στην οπτική οξύτητα ακόμα κι αν έχει καταγραφεί εξέλιξη του όγκου (76). Κλινική επιδείνωση έχει οριστεί ένας ή συνδυασμός παραμέτρων όπως η μειωμένη οπτική οξύτητα, η μειωμένη αντίληψη χρωμάτων, η εξέλιξη ελλειμμάτων στα οπτικά πεδία, η προοδευτική πρόπτωση, η νέας έναρξης ενδοκρινής δυσλειτουργία ή νευρολογικά συμπτώματα (57). Μια de novo εμφάνιση οιδήματος του οπτικού νεύρου ή ατροφίας αυτού χωρίς αλλαγή στην όραση δεν πρέπει να λαμβάνεται ως κλινική επιδείνωση, καθώς κανένα από τα δυο δεν μπορεί να προβλέψει την απώλεια της οπτικής οξύτητας (17). Η απεικονιστική επιδείνωση έχει παρόμοια ετερογένεια στον ορισμό και περιλαμβάνει αύξηση του όγκου, αλλαγή στην ενίσχυση και προοδευτική συμμετοχή της οπίσθιας οπτικής οδού (74).

Η χημειοθεραπεία αποτελεί τη θεραπεία πρώτης επιλογής για τα γλοιώματα της οπτικής οδού σε όλες τις ηλικιακές ομάδες (77). Το στάνταρ σχήμα χημειοθεραπείας είναι ο συνδυασμός βινκριστίνης και καρβοπλατίνης (55). Η άμεση τοξικότητας της καρβοπλατίνης είναι η καταστολή του μυελού, ωστόσο δεν έχει αναφερθεί σημαντική μακροπρόθεσμη τοξικότητα (78). Ο κύριος περιοριστικός παράγοντας είναι η αντίδραση υπερευαισθησίας (79) σε αυτή την ουσία που παρατηρείται στο 40% των ασθενών (80). Άλλα πρωτόκολλα περιλαμβάνουν τη μονοθεραπεία με τεμοζολαμίδη (81), ή το συνδυασμό θειογουανίνης, προκαρβαζίνης, χλωρεθύλ-κυκλοεξύλ-νιτροζουρίας (CCNU, λομουστίνη) και βινκριστίνης ("TPCV") (76). Ωστόσο ο συνδυασμός "TPCV" αποφεύγεται στους NF1 ασθενείς, λόγω του κινδύνου δευτεροπαθούς λευχαιμίας σχετιζόμενης με τη λομουστίνη και προκαρβαζίνη, εφόσον οι NF1 ασθενείς έχουν ήδη προδιάθεση να αναπτύξουν λευχαιμία (82). Άλλα πρωτόκολλα περιλαμβάνουν τη σισπλατίνη και ετοποσίδη (83), τεμοζολαμίδη (84) και κυκλοφωσφαμίδη, τοποτεκάνη και από του στόματος ετοποσίδη (VP-16). Ωστόσο, η χρήση αλκυλιωτικών παραγόντων ή πολυφαρμάκων σε παιδιά με NF1 αυξάνει το θεωρητικό κίνδυνο ανάπτυξης δευτεροπαθών κακοηθειών και στειρότητας. Άρα δεν υπάρχει καμία σταθερή επιλογή δεύτερης ή τρίτης γραμμής. Ο κύριος στόχος της χημειοθεραπείας είναι η βελτίωση της οπτικής λειτουργίας μαζί με τη διακοπή της αύξησης του όγκου, αν και το αποτέλεσμα της χημειοθεραπείας στην οπτική οξύτητα ποικίλλει μεταξύ των μελετών καταλήγοντας ότι δεν βελτιώνει την όραση στην πλειοψηφία των παιδιών με γλοιώματα οπτικής οδού.

Αναφορικά με την ακτινοθεραπεία, ασθενείς με NF1 και γλοιώματα οπτικής οδού είναι πιο επιρρεπείς σε παρενέργειες. Πιο συγκεκριμένα, η NF1 αποτελεί κύριο παράγοντα κινδύνου για αποφρακτική αγγειοπάθεια, μια δυνητική

επιπλοκή της ακτινοθεραπείας στα παιδιά με γλοιώματα της οπτικής οδού (85). Επιπλέον, υπάρχει σημαντικός κίνδυνος δευτεροπαθών όγκων, ειδικά αν η θεραπεία γίνεται κατά τη διάρκεια της παιδικής ηλικίας. Σε μια πολυκεντρική μελέτη, το 50% των NF1 ασθενών που έλαβαν ακτινοθεραπεία για προοδευτικά επιδεινούμενα γλοιώματα της οπτικής οδού διεγνώσθησαν με δευτεροπαθείς όγκους εγκεφάλου. Ο σχετικός κίνδυνος για δευτεροπαθή όγκο του νευρικού συστήματος μετά από ακτινοβολία ήταν 3.04 (86).

Για τα περισσότερα γλοιώματα της οπτικής οδού, ειδικά σε παιδιά με NF1 χειρουργική βιοψία δεν ενδείκνυται παρά μόνο σε σπάνιες καταστάσεις με ασυνήθιστα κλινικά και απεικονιστικά χαρακτηριστικά (56). Η χειρουργική εξαίρεση παρότι η πρώτη επιλογή σε χαμηλού βαθμού αστροκυτώματα, έχει περιορισμένο ρόλο και σπάνια είναι κατάλληλη για τα γλοιώματα της οπτικής οδού (76). Εφόσον, τα γλοιώματα χωρίς συμμετοχή του χιάσματος κατά την παρουσίαση σπάνια μεγαλώνουν προς τα πίσω (μέσα στο χίασμα αργότερα) η αφαίρεση ενός γλοιώματος του οπτικού νεύρου για την αποφυγή εξάπλωσης προς το οπτικό χίασμα δεν απαιτείται (76). Το χειρουργείο για τα γλοιώματα του οπτικού χιάσματος και του υποθαλάμου δεν εφαρμόζεται στην πράξη λόγω του κινδύνου επιδείνωσης της οπτικής οξύτητας μαζί με τον κίνδυνο για ενδοκρινικά ελλείμματα και αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια (76). Χειρουργική επέμβαση ενδείκνυται σε ασθενείς με γλοιώματα του οπτικού νεύρου που προκαλούν επώδυνη ή παραμορφωτική πρόπτωση και έκθεση του κερατοειδούς ενός τυφλού ή σχεδόν τυφλού οφθαλμού (87). Επίσης γλοιώματα του υποθαλάμου ή του οπτικού χιάσματος απαιτούν χειρουργική αποσυμφόρηση ειδικά όταν υπάρχει υδροκέφαλος λόγω συμπίεσης της τρίτης κοιλίας (17). Μια πρόσθια ή οπίσθια κογχοτομή με ενδοκράνια προσέγγιση ή

συνδυασμός έχει περιγραφεί για τα γλοιώματα της οπτικής οδού που εξαρτάται από την εντόπιση του όγκου (88).

2. Νευροϊνωμάτωση τύπου 2

Η NF2 είναι επίσης μια αυτοσωμική επικρατούσα νόσος που προκαλείται από μετάλλαξη στο γονίδιο για τη NF2 που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 22-22q12.2 (89). Αυτό το γονίδιο κωδικοποιεί τη merlin, μια πρωτεΐνη που βοηθά στη σύνδεση του κυτταροσκελετού της ακτίνης με την επιφάνεια των γλυκοπρωτεϊνών και έχει σημαντική λειτουργία στην αναδιαμόρφωση των κυττάρων και τη ρύθμιση της ανάπτυξης (90). Υπάρχει 50% πιθανότητα μετάδοσης από έναν προσβεβλημένο άτομο στους απογόνους, ωστόσο 50-60% των ασθενών δεν έχουν οικογενειακό ιστορικό, παρουσιάζουν αντίθετα de novo μεταλλάξεις. Τα κλινικά χαρακτηριστικά αυτής της κατάστασης περιλαμβάνουν αμφοτερόπλευρα αιθουσαία σβανώματα, πολλαπλά μηνιγγιώματα, όγκοι κρανιακών νεύρων, όγκοι σπονδυλικής στήλης και διαταραχές οφθαλμών.

Τα πιο σοβαρά οφθαλμολογικά προβλήματα είναι τα αμαρτώματα του οπτικού νεύρου, τα αμαρτώματα του αμφιβληστροειδούς (συνδυασμένα αμαρτώματα του μελαγχρόου επιθηλίου και του αμφιβληστροειδούς) (91). Υψηλό ποσοστό ασθενών (60-80%) εμφανίζουν νωρίς καταρράκτη στη ζωή τους, συνήθως με οπίσθιες υποκαψικές ή φλοιώδεις σφηνοειδείς θολερότητες του φακού. Η παρουσία επιαμφιβληστροειδικής μεμβράνης μπορεί επίσης να συμβεί (92).

Άλλα σποραδικά ευρήματα σε αυτούς τους ασθενείς είναι η δυστροφική κερατίτιδα λόγω συμμετοχής του πέμπτου κρανιακού νεύρου ή πάρεση προσώπου λόγω εμπλοκής του έβδομου κρανιακού νεύρου (93). Οι ασθενείς με τη διάγνωση της NF2 πρέπει να υποβάλλονται σε μαγνητική τομογραφία εγκεφάλου για την καλύτερη

εκτίμηση πιθανού όγκου. Τις τελευταίες δεκαετίες, η ακτινοθεραπεία χρησιμοποιήθηκε για τη διαχείριση των σχετιζόμενων με τη NF2 όγκων. Ωστόσο, σήμερα το χειρουργείο θεωρείται η στάνταρ θεραπεία, αν και δεν είναι πάντα δυνατό να αφαιρούνται όλες οι βλάβες (94). Η εισαγωγή των αντι-αγγειογενετικών παραγόντων (anti-VEGF) έχει αλλάξει τα δεδομένα. Μελέτες με τη μπεβασιζουμάμπη συμπεραίνουν ότι οι αντι-αγγειογενετικές θεραπείες μπορούν να μειώσουν τον όγκο και να συμβάλλουν σημαντικά στη βελτίωση της ακοής στους NF2 ασθενείς (95).

3. Σβαννωμάτωση

Η σβαννωμάτωση είναι μια διαταραχή που χαρακτηρίζεται από πολλαπλούς καλοήθεις όγκους, τα σβαννώματα, που αποτελούν τύπους όγκων που μεγαλώνουν πάνω στα νεύρα (96). Αναπτύσσονται όταν τα κύτταρα του Schwann που είναι υπεύθυνα για τη διαμόρφωση ενός μονωτικού υλικού γύρω από τα νεύρα σε φυσιολογικές συνθήκες, μεγαλώνουν ανεξέλεγκτα δημιουργώντας όγκους.

Τα σημεία και τα συμπτώματα της νόσου εμφανίζονται κατά την πρώιμη ενήλικη ζωή. Το πιο κοινό σύμπτωμα είναι ο χρόνιος πόνος που μπορεί να επηρεάσει οποιοδήποτε μέρος του σώματος (97). Σε κάποιες περιπτώσεις ο πόνος γίνεται αισθητός σε περιοχές που δεν υπάρχει γνωστός όγκος και μπορεί να είναι ήπιος έως σοβαρός, δύσκολος στη διαχείριση. Άλλα σημεία και συμπτώματα εξαρτώνται από την εντόπιση των όγκων όπως και ποιά νεύρα επηρεάζονται. Περιλαμβάνουν μουδιάσματα, αδυναμία, μυρμήγκιασμα και πονοκεφάλους, ενώ το προσδόκιμο επιβίωσης είναι φυσιολογικό για αυτούς τους ασθενείς (98). Τα χαρακτηριστικά της σβαννωμάτωσης μπορεί να μοιάζουν πάρα πολύ με της NF2, ωστόσο δεν περιλαμβάνει όγκους του έσω ωτός, τα αιθουσαία σβαννώματα που αποτελούν τυπικό χαρακτηριστικό της NF2.

Η επίπτωση της νόσου είναι άγνωστη, αν και εκτιμάται να κυμαίνεται σε 1 στις 40.000 έως 1 στα 1.7 εκατομμύρια άτομα. Η σβαννωμάτωση ευθύνεται μόνο για πολύ μικρό ποσοστό όλων των σβαννωμάτων. Τα περισσότερα σβαννώματα είναι μεμονωμένα, δηλαδή ο ασθενής έχει ένα μόνο όγκο. Είναι σπανιότερο να υπάρχουν πολλαπλά σβαννώματα όπως συμβαίνει στη σβαννωμάτωση.

Μεταλλάξεις σε τουλάχιστον δύο γονίδια, SMARCB1 και LZTR1, μπορούν να προκαλέσουν σβαννωμάτωση (99). Οι πρωτεΐνες που προκύπτουν και από τα δύο γονίδια πιστεύεται ότι δρουν ως καταστολείς του όγκου, εμποδίζοντας τα κύτταρα να αναπτυχθούν και να διαιρεθούν πολύ γρήγορα ή με ανεξέλεγκτο τρόπο. Μεταλλάξεις σε οποιοδήποτε από αυτά τα γονίδια βοηθά τα κύτταρα να μεγαλώσουν ανεξέλεγκτα για να δημιουργήσουν τον όγκο. Μόνο οι παραπάνω μεταλλάξεις δεν είναι αρκετές για να κινητοποιήσουν την ανάπτυξη σβαννωμάτων. Επιπλέον γενετικές αλλοιώσεις (σωματικές μεταλλάξεις) που αποκτώνται κατά τη διάρκεια της ζωής ενός ατόμου και υπάρχουν μόνο σε ορισμένα κύτταρα μπορεί επίσης να απαιτηθούν για να σχηματιστούν τα σβαννώματα. Οι πιο συχνές σωματικές μεταλλάξεις είναι μεταλλάξεις στο NF2 γονίδιο και η απώλεια του χρωμοσώματος 22 (το οποίο είναι το χρωμόσωμα που εντοπίζονται τα SMARCB1 , LZTR1 και NF2 γονίδια) (100). Οι περισσότερες περιπτώσεις σβαννωμάτωσης είναι σποραδικές, δηλαδή συμβαίνουν σε άτομα χωρίς κληρονομικό οικογενειακό ιστορικό.

4. Κερατοειδής χιτώνας και χαρακτηριστικά ενδοθηλίου

Ο κερατοειδής χιτώνας αποτελεί έναν διαφανή ανάγγειο ιστό που συμβάλλει σημαντικά στη δομική ακεραιότητα του οφθαλμού. Η διαθλαστική του ισχύς προσεγγίζει το 70% της συνολικής διαθλαστικής δύναμης του οφθαλμού. Το πάχος του στο κέντρο είναι περίπου 520μm και σταδιακά αυξάνεται προς την

περιφέρεια φτάνοντας τα 700-900μm (101). Συνδέεται με τον σκληρό χιτώνα με μεταβατική ζώνη, το σκληροκερατοειδές όριο.

Αποτελείται από πέντε στιβάδες η κάθε μια με ξεχωριστά χαρακτηριστικά, (α) το επιθήλιο, (β) η μεμβράνη του Bowman, (γ) το στρώμα, (δ) η δεσκεμέτειος μεμβράνη και το (ε) το ενδοθήλιο. Το 2013 περιγράφηκε και μια επιπλέον μεμβράνη, η προ-δεσκεμέτειος (102), ωστόσο η ύπαρξη της αμφισβητείται από πολλούς ερευνητές (103). Διαθέτει πλούσια αισθητική νευρώση από το οφθαλμικό νεύρο (πρώτο κλάδου του τριδύμου) μέσω των μακρών και βραχέων ακτινοειδών νευρών. Η μεμβράνη του Descemet και η στιβάδα του ενδοθηλίου δε διαθέτουν νευρώση. Η απώλεια της αισθητικότητας του κερατοειδή έχει ως αποτέλεσμα τη διαταραχή της μεταβολικής δραστηριότητας των επιθηλιακών κυττάρων καταλήγοντας στην απόπτωση αυτών.

Το ενδοθήλιο του κερατοειδούς αποτελεί την πιο σημαντική στιβάδα αυτού. Μοιάζει με μωσαικό δίκην κηρήθρας και είναι σε επαφή με το υδατοειδές υγρό. Εμβρυολογικά, προέρχεται από κύτταρα της νευρικής ακρολοφίας που σχηματίζουν μια μονή στιβάδα κυβοειδών κυττάρων που σταδιακά αποπλατύνονται με ισχυρές μεταξύ τους συνδέσεις. Αποτελείται από 350.000-500.000, ομοιόμορφα κατανεμημένα, εξαγωνικού κυρίως σχήματος, πάχους 4-6μm, εύρους 20μm και επιφανείας περίπου 250μm². Τα ενδοθηλιακά κύτταρα περιέχουν πολλά μιτοχόνδρια και επομένως έχουν υψηλό μεταβολισμό (104). Σπουδαίος ο ρόλος του ενδοθηλίου να κρατήσει αφυδατωμένο το στρώμα μέσω ενεργού αντλίας (105) και κατ' επέκταση ρυθμίζει την ενυδάτωση του κερατοειδούς εξασφαλίζοντας έτσι τη διαφάνεια αυτού. Απαραίτητη προϋπόθεση για τα παραπάνω είναι να είναι άθικτη η ενδοθηλιακή στιβάδα. Σε περίπτωση τραυματισμού ή βλάβης ή διάσπασης, αναπτύσσεται οίδημα κερατοειδούς.

Τα κύτταρα του ενδοθηλίου του κερατοειδούς έχουν περιορισμένη δυνατότητα στο να διαιρούνται και να αντικαθιστούν τα γερασμένα ή τραυματισμένα κύτταρα. Τα κυβοειδή ενδοθηλιακά κύτταρα πρακτικά δεν ανανεώνονται ή ανανεώνονται σε πολύ μικρό βαθμό γιατί δεν μπορούν να αναπαραχθούν *in vivo*. Έτσι, ενώ περίπου κατά τη γέννηση η πυκνότητα των κυττάρων του ενδοθηλίου είναι περίπου 5.624 κύτταρα/mm², κατά την ενήλικη ζωή είναι 2.500-3.000 κύτταρα/mm². Κατά την ενήλικη ζωή επιβραδύνεται ο ετήσιος ρυθμός μείωσης της πυκνότητας των κυττάρων σε 0.6% (106). Παρόλα αυτά, διατηρείται το φυσιολογικό πάχος και η διαφάνεια του κερατοειδούς, γιατί το ενδοθήλιο έχει την εξαιρετική ικανότητα να μεγεθύνει, να ξαναοργανώνει και να μεταναστεύει τα κύτταρα του ώστε να διατηρείται μια ισχυρή σύνδεση μεταξύ των γειτονικών του κυττάρων, ρυθμίζοντας την είσοδο του υδατοειδούς υγρού μέσα στο στρώμα (107, 108). Δύο είναι οι χαρακτηριστικές ιδιαιτερότητες των ενδοθηλιακών κυττάρων, ο πολυμεγαθισμός, δηλαδή η ικανότητα να αυξάνονται σε μέγεθος και ο πλειομορφισμός, δηλαδή η ποικιλία στο σχήμα τους. Η ισορροπία διάχυσης στον κερατοειδή χάνεται όταν η πυκνότητα των κυττάρων μειωθεί σε μερικές εκατοντάδες κύτταρα/mm² (109).

Με τη μείωση του αριθμού των ενδοθηλιακών κυττάρων, λόγω ηλικίας, φλεγμονής, τραυματισμού ή παθήσεων όπως η δυστροφία του Fuchs τα κύτταρα που απομένουν "απλώνουν" για να καλύψουν το κενό, αυξάνοντας σε μέγεθος και χάνοντας το εξαγωνικό τους σχήμα (106, 110). Ο πλειομορφισμός εκφράζει τη διακύμανση των ενδοθηλιακών κυττάρων ως προς τον αριθμό των πλευρών και το σχήμα τους (111). Καθώς η τυπική απόκλιση (standard deviation) του μέσου όρου του μεγέθους αυξάνεται, η ακρίβεια της μέτρησης του αριθμού των κυττάρων μειώνεται. Συνεπώς, όσο αυξάνεται ο πολυμεγαθισμός, μειώνεται η ακρίβεια υπολογισμού του μέσου μεγέθους των κυττάρων. Ο πολυμεγαθισμός προσδιορίζεται από την τιμή

"coefficient of variation (CV)" και είναι ο λόγος της τυπικής απόκλισης του μεγέθους των κυττάρων προς το μέσο όρο του μεγέθους τους ($CV=SD/average\ cell\ area$) ([112](#)). Η φυσιολογική τιμή του CV ενός υγιούς κερατοειδούς σε ένα νεαρό ενήλικα είναι περίπου 25%. Ο πολυμεγαθισμός και ο πλειομορφισμός αυξάνονται φυσιολογικά με την ηλικία ([110](#)), μετά από τραυματισμούς του οφθαλμού, χρήση φακών επαφής και στις ενδοθηλιοπάθειες.

5. Αρχές ενδοθηλιοσκόπησης

Το ενδοθηλιοσκόπιο (corneal specular microscopy) είναι ένα μικροσκόπιο ανακλώμενου φωτός που καταγράφει την εικόνα του ενδοθηλίου του κερατοειδούς. Η λειτουργία του βασίζεται στην προβολή φωτός προς τον κερατοειδή, το μεγαλύτερο ποσοστό του οποίου μεταδίδεται προς το υδατοειδές υγρό. Καθώς η δέσμη του κατοπτρικού μικροσκοπίου περνά μέσα από τον κερατοειδή συναντά μια σειρά από διαφορετικές επιφάνειες με αποτέλεσμα μέρος του φωτός να ανακλάται πίσω προς το μικροσκόπιο και μέρος του να διεισδύει βαθύτερα ([113](#)). Από το φως που προσκρούει στην οπίσθια επιφάνεια του κερατοειδούς, το μεγαλύτερο μέρος μεταδίδεται προς το υδατοειδές υγρό. Ο δείκτης διάθλασης των ενδοθηλιακών κυττάρων (δ.δ. 1,376) είναι διαφορετικός από το δείκτη διάθλασης του υδατοειδούς υγρού (δ.δ. 1,336), μέρος του φωτός ανακλάται πίσω στον κερατοειδή. Σε φυσιολογικούς οφθαλμούς όλο το ανακλώμενο φως ανακλάται κατοπτρικά διότι η γωνία πρόσπτωσης είναι ίση με τη γωνία ανάκλασης. Αμελητέο ποσοστό του ανακλώμενου φωτός ανακλάται προς άλλη κατεύθυνση. Τέλος, το κατοπτρικά ανακλώμενο φως συλλέγεται από τον αντικειμενικό φακό του μικροσκοπίου και έτσι σχηματίζεται η εικόνα από το ενδοθήλιο του κερατοειδούς ([114](#)). Σε έναν κερατοειδή με ανώμαλη οπίσθια επιφάνεια ή οίδημα στο στρώμα, μειώνεται η ένταση του

ανακλώμενου φωτός γιατί το μεγαλύτερο μέρος του φωτός που προσπίπτει διαχέεται αντί να ανακλάται.

Όλα τα σύγχρονα ενδοθηλιοσκόπια βασίζονται στο εργαστηριακό κατοπτρικό μικροσκόπιο που σχεδίασε ο Maurice το 1968 (115). Μετά από κατάλληλες τροποποιήσεις, το 1975 παρουσιάστηκε το πρώτο ενδοθηλιοσκόπιο κατάλληλο για *in vivo* κλινική χρήση, από όπου ξεκίνησε η τεχνική της κλινικής ενδοθηλιοσκόπησης όπως είναι γνωστή σήμερα (116). Τα ενδοθηλιοσκόπια μπορεί να είναι επαφής, οπότε εφάπτονται στον κερατοειδή μέσω ενός φακού επαφής που επιπεδώνει την επιφάνεια του κερατοειδούς ή μη επαφής που χρησιμοποιούν τεχνολογία αυτόματης εστίασης (112) και είναι αυτά έχουν γίνει ευρέως γνωστά τη σύγχρονη εποχή.

Τρεις είναι οι μεταβλητές που καταγράφονται μέσω της ενδοθηλιοσκόπησης. (α) Το μέγεθος του ενδοθηλιακού κυττάρου, με τον όρο της κυτταρικής πυκνότητας ανά 1mm^2 (ECD: Endothelial Cell Density), (β) η έκταση του κυτταρικού μεγέθους, με τον όρο του συντελεστή μεταβλητότητας του μεγέθους των κυττάρων (CV: Coefficient of Variation) και (γ) η ετερογένεια/ασυμμετρία του πληθυσμού των κυττάρων, με τον όρο του συντελεστή εξαγωνικότητας (% Hex), που εκφράζει το ποσοστό των εξαγωνικών κυττάρων. Έτσι μέσω της ενδοθηλιοσκόπησης, μπορεί να καταγραφεί ο βαθμός της ενδοθηλιακής βλάβης ως μια ελάττωση του αριθμού και της πυκνότητας των ενδοθηλιακών κυττάρων, ως μια αύξηση του μεγέθους του κάθε κυττάρου, ως μια αύξηση της ανομοιομορφίας του μεγέθους των κυττάρων ή και ως μείωση του ποσοστού των εξαγωνικών κυττάρων (112). Συμπερασματικά, ο πολυμεγαθισμός περιγράφει τη διακύμανση και επομένως την ετερογένεια στο μέγεθος των ενδοθηλιακών κυττάρων. Ενώ, ο πλειομορφισμός

περιγράφει την απόκλιση της μορφολογίας των κυττάρων από το βασικό εξαγωνικό τους σχήμα και επομένως την ετερογένεια στο σχήμα των κυττάρων ([117](#)).

B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Σκοπός

Σκοπός αυτής της διατριβής είναι η μελέτη NF1 ασθενών και η ανάδειξη των ιδιαιτεροτήτων των οφθαλμολογικών χαρακτηριστικών τους, καθώς πρόκειται για μια πολύ σπάνια νόσος, όπως και ο εμπλουτισμός της υπάρχουσας βιβλιογραφίας.

Η πρώτη μελέτη που διεξήχθη στην Α' Πανεπιστημιακή Οφθαλμολογική Κλινική του Νοσοκομείου "Γ.Γεννηματάς" είχε σαν στόχο την εκτίμηση των μορφολογικών ιδιοτήτων των ενδοθηλιακών κυττάρων του κερατοειδούς καθώς και τον υπολογισμό του κεντρικού πάχους αυτού σε ασθενείς με νευροϊνωμάτωση τύπου Ι και η σύγκρισή τους με τα αντίστοιχα χαρακτηριστικά υγιών συμμετεχόντων ματσαρισμένων ως προς την ηλικία, έναν πολύ σημαντικό συγχυτικό παράγοντα στην αξιολόγηση των προαναφερθέντων παραμέτρων.

Η δεύτερη δημοσίευση αφορούσε την παρουσίαση ενός περιστατικού ανώδυνης μάζας βολβικού επιπεφυκότα στον αριστερό οφθαλμό ενός ηλικιωμένου NF1 ασθενούς εξαιτίας μη-Hodgkin λεμφώματος Β-κυττάρων σύμφωνα με τα αποτελέσματα της βιοψίας. Είναι το πρώτο περιστατικό στη βιβλιογραφία που αναφέρει πιθανή επιπεφυκοτική προσβολή σε NF1 ασθενή, χωρίς συστηματική προσβολή. Σκοπός ήταν η ανάδειξη της σπουδαιότητας να σκεφτόμαστε τη διάγνωση του λεμφώματος, στη διαφορική διάγνωση μιας επιπεφυκοτικής μάζας στον κόγχο σε ασθενείς με NF1, λόγω του υψηλού κινδύνου κακοηθειών σε αυτόν τον πληθυσμό.

2. Μεθοδολογία

2.1. Πληθυσμός

Η μελέτη διεξήχθη από τον Μάρτιο του 2018 μέχρι τον Ιανουάριο του 2020 στην Α' Πανεπιστημιακή Οφθαλμολογική Κλινική Αθηνών του Νοσοκομείου "Γ. Γεννηματάς" σύμφωνα με τη Διακήρυξη του Ελσίνκι εντός των απαραίτητων νομικών πλαισίων. Το πρωτόκολλο της μελέτης εγκρίθηκε από το θεσμικό Συμβούλιο του Νοσοκομείου μας και την τοπική Επιτροπή Δεοντολογίας. Όλοι οι συμμετέχοντες (ασθενείς και υγιείς) υπέγραψαν γραπτή φόρμα συγκατάθεσης μετά από επεξήγηση του πρωτοκόλλου της μελέτης. Δεκαεννέα NF1 ασθενείς και 38 υγιείς ματσαρισμένοι ως προς την ηλικία (2 υγιείς ανά περιστατικό), τον πιο σημαντικό συγχυτικό παράγοντα στην εκτίμηση των μορφολογικών χαρακτηριστικών του κερατοειδούς, συμπεριελήφθησαν στη μελέτη.

2.2. Ανάλυση των παραμέτρων του κερατοειδούς

Όλοι οι συμμετέχοντες υπεβλήθησαν σε πλήρη οφθαλμολογικό έλεγχο που περιελάμβανε την καταγραφή της καλύτερα διορθωμένης οπτικής οξύτητας μέσω διαγραμμάτων Snellen, την εξέταση στη σχισμοειδή λυχνία, τον υπολογισμό της ενδοφθάλμιας πίεσης καθώς και την εξέταση του οπισθίου ημιμορίου κατόπιν μυδρίασης. Καταγράφηκαν τα δημογραφικά χαρακτηριστικά (ηλικία, φύλο) των συμμετεχόντων, το γενικό ιατρικό ιστορικό τους καθώς και συννοσηρότητες που θα μπορούσαν να επηρεάσουν τις παραμέτρους που αξιολογούμε (όπως αρτηριακή υπέρταση, σακχαρώδης διαβήτης, ουρική αρθρίτιδα, χρόνια νεφρική νόσος, νεοπλασία, ρευματοειδής αρθρίτιδα, συστηματικός ερυθηματώδης λύκος και διαταραχές ύπνου). Ασθενείς με οφθαλμολογικό ιστορικό όπως προηγούμενο οφθαλμολογικό τραύμα ή χειρουργείο, προϋπάρχοντα νοσήματα του κερατοειδούς ή της οφθαλμικής επιφάνειας, ώριμος καταρράκτης, ενδοφθάλμια φλεγμονή, χρήση

φακών επαφής, γλαύκωμα, ψευδοαποφολίδωση, νοσήματα του αμφιβληστροειδούς, συχνή χρήση οφθαλμικών σταγόνων ή γνωστών συστηματικών φαρμάκων που επηρεάζουν τα δάκρυα (όπως ορμονικά υποκατάστατα, αντιισταμινικά, αντικαταθλιπτικά) αποκλείστηκαν από τη μελέτη. Τέλος, ασθενείς με υπερμετρωπία πάνω από +4 διοπτρίες, μυωπία μεγαλύτερη από -5 διοπτρίες, αστιγματισμό που υπερβαίνει ± 1 διοπτρία επίσης εξαιρέθηκαν από τη μελέτη, όχι μόνο λόγω της αμφίβολης επίδρασης των ακραίων διαθλαστικών ανωμαλιών (κυρίως η υψηλή μυωπία) στη μορφολογία του ενδοθηλίου του κερατοειδούς αλλά και για να επιτευχθεί το καλύτερο δυνατό ματσάρισμα των NF1 ασθενών με υγιείς ([118](#), [119](#)).

Όλοι οι συμμετέχοντες υπεβλήθησαν σε κατοπτρική μη-επαφής μικροσκοπία του κερατοειδούς με τη χρήση του μηχανήματος TOMÉY EM-3000 (**Εικόνα 8**), από τον ίδιο εξεταστή (Χρυσούλα Φλώρου). Ζητήθηκε από τον ασθενή να σταθεροποιήσει το βλέμμα του για λίγα δευτερόλεπτα σε ένα κόκκινο φως μέσα στο μηχάνημα, ώστε να ληφθεί αυτοματοποιημένα μια καθαρή εικόνα του ενδοθηλίου του κερατοειδούς, υπολογίζοντας συγχρόνως και το πάχος του κεντρικού κερατοειδούς. Όλες οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν από την κεντρική καθαρή περιοχή του κερατοειδούς.



Εικόνα 8.: Κατοπτρικό μικροσκόπιο μη-επαφής του ενδοθηλίου του κερατοειδούς (TOMÉY EM-3000)

Όλες οι μετρήσεις έγιναν τουλάχιστον τρεις φορές στη σειρά με τη χρήση της "κεντρικής" μεθόδου, τη πιο συχνή μέθοδο χειροκίνητης ανάλυσης, στην οποία ο χρήστης σημειώνει το κέντρο κάθε κυττάρου μιας συνεχόμενης ομάδας και το λογισμικό υπολογισμού κυττάρων του μηχανήματος μετρά τον αριθμό των κυττάρων προσδιορίζοντας την επιφάνεια αυτών από την ψηφιοποίηση ενός πολυγώνου εντοπίζοντας τα όρια των γειτονικών κυττάρων (120). Τουλάχιστον 100 γειτονικά κύτταρα στο εκτιμώμενο πεδίο του κερατοειδούς συμπεριελήφθησαν σε κάθε μέτρηση και υπολογίστηκε η μέση τιμή αυτών. Η πυκνότητα των ενδοθηλιακών κυττάρων σε 1mm^2 (ECD: Endothelial Cell Density), ο μέσος όρος του μεγέθους των κυττάρων (AVG: Average Cell Area), το μεγαλύτερο (Max) και το μικρότερο (Min) μέγεθος από τα κύτταρα που είχαν μετρηθεί, η σταθερά απόκλιση του μεγέθους των κυττάρων (SD: Standard Deviation), ο συντελεστής μεταβλητότητας του μεγέθους των κυττάρων (CV: Coefficient of Variation), το ποσοστό των εξαγωνικών κυττάρων (% Hex) το κεντρικό πάχος του κερατοειδούς (CCT: Central Corneal Thickness) κάθε οφθαλμού καταγράφηκαν. Η επαναληψιμότητα εντός του παρατηρητή για τις μετρήσεις όλων των παραμέτρων του ενδοθηλίου του κερατοειδούς ήταν εξαιρετική, όπως αποδεικνύεται και από το συντελεστή ενδοταξικής συσχέτισης (Intraclass correlation coefficient >0.9).

2.3. Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πακέτο SPSS (IBM Corp., έκδοση 21.0, Armonk, NY, USA). Αν και εξετάστηκαν και οι δυο οφθαλμοί, επιλέχθηκε τυχαία ο ένας για να αναλυθεί, ώστε να αποφευχθεί η ύπαρξη σφάλματος λόγω της αλληλοσυσχέτισης των τιμών μεταξύ των οφθαλμών του ίδιου ασθενούς. Πραγματοποιήθηκε έλεγχος για το εάν οι μεταβλητές ακολουθούν

κανονική κατανομή σύμφωνα με το Kolmogorov-Smirnov test και ιστογράμματα. Οι μεταβλητές που ακολουθούν κανονική κατανομή παρουσιάστηκαν ως μέση τιμή \pm σταθερή απόκλιση και οι κατηγορικές μεταβλητές ως συχνότητες. Οι συγκρίσεις μεταξύ των δύο ομάδων (υγιών και NF1 ασθενών) πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση T-test ανεξάρτητων δειγμάτων για τις συνεχείς μεταβλητές και με το χ^2 test για τις κατηγορικές αντίστοιχα. Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε ως $p < 0.05$ για όλες τις συγκρίσεις. Έχοντας τα αποτελέσματα, υπολογίσαμε το Cohen's d (effect size) των δυο ομάδων μας πάνω από 0.6 για τον συντελεστή διακύμανσης της επιφάνειας των κυττάρων και το ποσοστό των εξαγωνικών κυττάρων και πραγματοποιήσαμε post hoc υπολογισμό της δύναμης, λαμβάνοντας υπ' όψιν την πιθανότητα 0.05 του α -σφάλματος με τη χρήση του λογισμικού G* power. Η δύναμη της μελέτης μας για $d=2.5$ και $\alpha=0.05$ υπολογίστηκε σε 0.67.

3. Αποτελέσματα

Τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των 19 NF1 ασθενών καθώς και των 38 ματσαρισμένων ως προς την ηλικία υγιών συμμετεχόντων παρουσιάζονται στον **πίνακα 1**. Η μέση ηλικία των NF1 ασθενών και των υγιών ήταν 41.8 ± 18.2 χρόνια και 42.3 ± 17.7 χρόνια, αντίστοιχα.

	NF1 (19 patients)	Controls (38 patients)	P
Age (mean \pm SD, years)	41.8 \pm 18.2	42.3 \pm 17.7	0.925
Gender (n, %)			1.000
Male	6 (31.6)	13 (34.2)	
Female	13 (68.4)	25 (65.8)	
Lisch nodule (n,%)			-
Positive	34 (89.5)	NA	
Negative	4 (10.5)	NA	

Πίνακας 1: Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση για τις συνεχείς και ως ποσοστά (%) για τις κατηγορικές μεταβλητές. NA: not applicable (μη εφαρμόσιμο)

Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ NF1 και υγιών αναφορικά με την ηλικία (P=0.925), το φύλο (P=1.000) και τη διαθλαστική ισχύ εκφραζόμενη ως σφαιρικό ισοδύναμο (P=0.875). Τα οζίδια του Lisch ανευρέθηκαν σε 34 NF1 ασθενείς (89.5%).

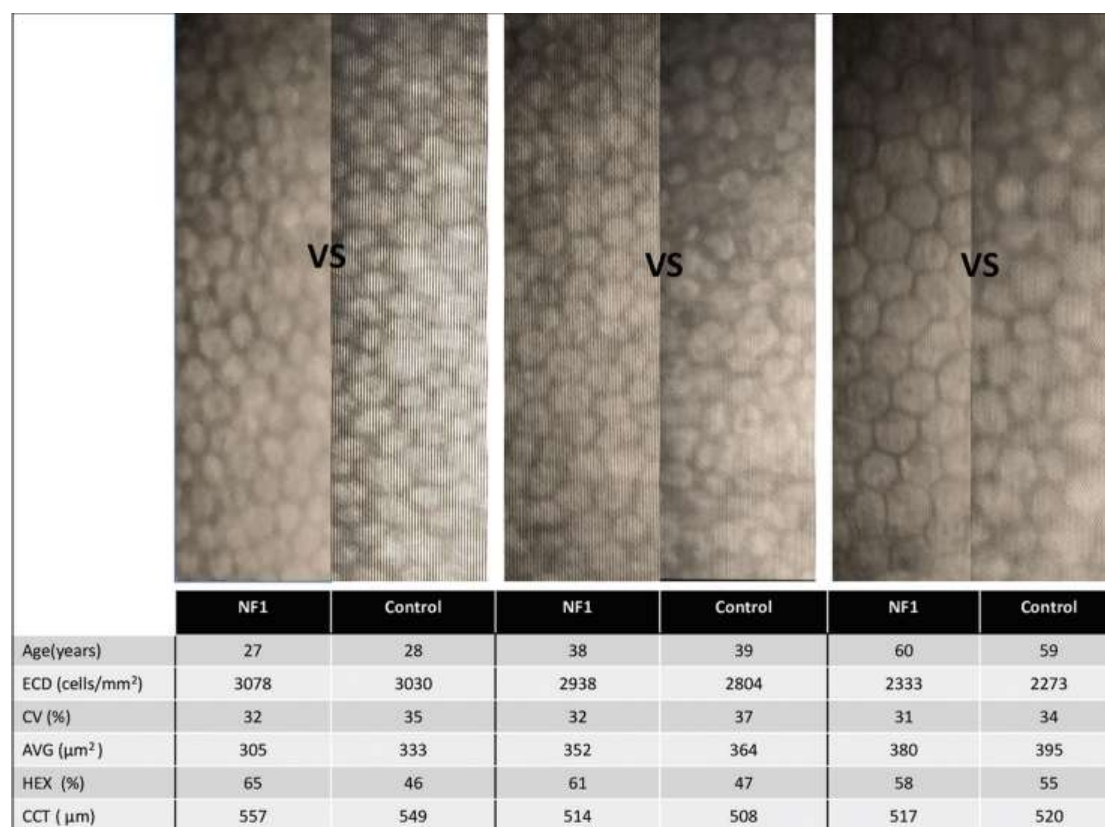
Στον **πίνακα 2**, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της κατοπτρικής μικροσκοπίας του ενδοθηλίου του κερατοειδούς και η σύγκριση μεταξύ υγιών και NF1 ασθενών. Οι NF1 ασθενείς είχαν μεγαλύτερη πυκνότητα ενδοθηλιακών κυττάρων (ECD) συγκριτικά με τους υγιείς (2764.2 ± 270.4 έναντι 2570.4 ± 449.2 κύτταρα/mm² για τους NF1 και υγιείς αντίστοιχα) αν και σε οριακό επίπεδο (P=0.051).

	NF1 (19 patients)	Controls (38 patients)	P
Endothelial cell density (mean±SD, cells/mm ²)	2764.2±270.4	2570.4±449.2	0.051
Average size (mean±SD, μm ²)	364.9±34.4	406.0±107.4	0.038
Cell size coefficient of variation (mean±SD, %)	32.9±4.6	37.8±9.5	0.011
Hexagonality (mean±SD, %)	55.7±6.5	50.5±9.9	0.025
Central Corneal Thickness (mean±SD, μm)	535.9±43.6	535.2±42.1	0.955

Πίνακας 2: Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση για τις συνεχείς και ως ποσοστά (%) για τις κατηγορικές μεταβλητές

Η μέση τιμή του μέσου όρου του μεγέθους των κυττάρων (AVG) ήταν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερη στους NF1 όταν συγκρίθηκαν με τους υγιείς (364.9 ± 34.4 έναντι 406.0 ± 107.4μm², P=0.038, αντίστοιχα). Παρατηρήθηκε στατιστικά

σημαντική μείωση του συντελεστή μεταβλητότητας του μεγέθους των κυττάρων (CV) στους NF1 ασθενείς συγκριτικά με τους υγιείς (32.9 ± 4.6 έναντι $37.8 \pm 9.5\%$, $P=0.011$, αντίστοιχα). Όσον αφορά το ποσοστό της εξαγωνικότητας των κυττάρων (% Hex), οι NF1 ασθενείς παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερες τιμές συγκριτικά με τους υγιείς (55.7 ± 6.5 έναντι 50.5 ± 9.9 , $P=0.025$ αντίστοιχα). Επιπλέον, η μέση τιμή του κεντρικού πάχους του κερατοειδούς (CCT) των NF1 ασθενών ήταν παρόμοια με τους υγιείς (535.9 ± 43.6 έναντι 535.2 ± 42.1 , $P=0.955$, αντίστοιχα) (Εικόνα 9).



Εικόνα 9: Αντιπροσωπευτικές εικόνες ενδοθηλιακών κυττάρων του κερατοειδούς με μη επαφής κατοπτρικό μικροσκόπιο και οι αντίστοιχες μορφολογικές μετρήσεις 3 NF1 ασθενών και των αντίστοιχων ματσαρισμένων υγιών

4. Συζήτηση

Πρόκειται για την πρώτη μελέτη που εκτίμησε συνολικά όλα τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των ενδοθηλιακών κυττάρων του κερατοειδούς σε ασθενείς με νευροϊνωμάτωση τύπου I. Η εκτίμηση του ενδοθηλίου του κερατοειδούς μέσω κατοπτρικής μικροσκοπίας αποτελεί μια κρίσιμη διαδικασία, καθώς αυτός ο ιστός εμπλέκεται άμεσα στη διατήρηση σταθερού του πάχους και της μεταβολικής ομοιόστασης του κερατοειδούς χιτώνα (121). Το ενδοθήλιο αποτελεί, από μεταβολικής πλευράς, το πιο ενεργό στρώμα του κερατοειδούς αλλά συγχρόνως και το πιο ευαίσθητο σε δυνητική βλάβη. Συμπεράναμε ότι οι NF1 ασθενείς είχαν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερο συντελεστή μεταβλητότητας του μεγέθους των κυττάρων και μέση τιμή του μέσου όρου του μεγέθους των κυττάρων, αλλά υψηλότερες τιμές ποσοστού εξαγωνικότητας συγκριτικά με τους υγιείς ίδιας ηλικίας. Ενώ, η ενδοθηλιακή πυκνότητα ήταν αυξημένη στους NF1 ασθενείς αν και σε οριακό επίπεδο. Το κεντρικό πάχος του κερατοειδούς δε διέφερε σε στατιστικά σημαντικό βαθμό μεταξύ υγιών και NF1 ασθενών.

Τα αποτελέσματα μας συμφωνούν με τα ευρήματα της πρόσφατης μελέτης των Moramarco και συνεργατών (122) η οποία έδειξε αύξηση της πυκνότητας των ενδοθηλιακών κυττάρων σε 28 NF1 ασθενείς συγκριτικά με 14 υγιείς συμμετέχοντες. Αν και στη μελέτη μας, οι NF1 ασθενείς είχαν μεγαλύτερη πυκνότητα ενδοθηλιακών κυττάρων συγκριτικά με τους υγιείς σε οριακό επίπεδο (2764.2 ± 270.4 έναντι 2570.4 ± 449.2 κύτταρα/mm² για τους NF1 και υγιείς αντίστοιχα, $P=0.051$). Το μικρό μέγεθος δείγματος και των δύο μελετών που είναι αναμενόμενο λόγω της σπανιότητας της νόσου, η διαφορά στην αναλογία ασθενών : υγιών που συμμετείχαν, τα διαφορετικά χαρακτηριστικά των μελετώμενων πληθυσμών (κυρίως η κατανομή της ηλικίας) είναι οι λόγοι που μπορούν να εξηγήσουν την παραπάνω απόκλιση. Ο Edward και οι συνεργάτες του (123), παρατήρησαν πολλαπλασιασμό των

ενδοθηλιακών κυττάρων σε NF1 ασθενείς με ραγοειδικό εκτρόπιο και γλαύκωμα. Η λειτουργική απενεργοποίηση του NF1 γονιδίου οδηγεί σε ενεργοποίηση του MAPK μονοπατιού ([124](#), [125](#)) και σε πολλαπλασιασμό πολλών κυττάρων που προέρχονται από τη νευρική ακρολοφία οδηγώντας τελικά στην ανάπτυξη νευρινωμάτων και μελαγχρωστικών διαταραχών στους NF1 ασθενείς. Συνεπώς, έχει προταθεί η υπόθεση ότι η ενεργοποίηση του RAS μονοπατιού ίσως επίσης προκαλεί πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων του κερατοειδούς, εξηγώντας τα αποτελέσματά μας ([123](#), [126](#)).

Στα δυνατά σημεία της μελέτης μας, ήταν το γεγονός ότι ο σημαντικός συγχυτικός παράγοντας της ηλικίας στην εκτίμηση των μορφολογικών παραμέτρων του ενδοθηλίου του κερατοειδούς, εξαλείφθηκε με το ματσάρισμα με υγιείς ως προς την ηλικία, όπως επίσης και το ότι όλες οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν από τον ίδιο εξεταστή. Δυνητικός περιορισμός της μελέτης μας, ήταν το σχετικά μικρό μέγεθος δείγματος που εν μέρει εξισορροπήθηκε από την αναλογία 1:2 NF1 ασθενών με υγιείς.

Το ενδοθήλιο του κερατοειδούς, μια κυτταρική μονοστιβάδα της οπίσθιας επιφάνειας αυτού, υπεύθυνη για τη διαφάνεια του κερατοειδούς, είναι μοναδική γιατί αποτελεί το μοναδικό ιστό από ζωντανά κύτταρα που μπορεί να εξεταστεί σε υψηλή μεγέθυνση επαναλαμβανόμενα και μη επεμβατικά. Τα ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα δεν έχουν τη σημαντική ικανότητα να ανανεώνονται *in vivo*, συνεπώς δεν μπορούν να αντικαταστήσουν νεκρά ή κατεστραμμένα κύτταρα ([127](#)). Επομένως, η απάντησή τους σε μια μικρή βλάβη είναι να τεντώνονται και να μεταναστεύουν κεντρομόλα προς την τραυματισμένη περιοχή για να διατηρήσουν ανέπαφη τη λειτουργία του φραγμού και του ενεργού μηχανισμού μεταφοράς ([119](#)).

Η παραπάνω διαδικασία αντανακλά την κίνηση των φυσιολογικών ενδοθηλιακών κυττάρων που χαρακτηρίζει το φυσιολογικό μηχανισμό αποκατάστασης τραύματος και επομένως υπάρχει πάντα ένας βαθμός ποικιλίας στο μέγεθος των κυττάρων (πολυμεγαθισμός) του ενδοθηλίου του κερατοειδούς. Τόσο το ποσοστό του πολυμεγαθισμού όσο και του πλειομορφισμού (ποικιλία στο σχήμα του κυττάρου) αντανακλούν το λειτουργικό απόθεμα των ενδοθηλιακών κυττάρων και είναι ιδιαίτερα ευαίσθητοι δείκτες της αρχόμενης αστάθειας του ενδοθηλίου. Η αύξηση του συντελεστή μεταβλητότητας του μεγέθους των κυττάρων (CV) και η μείωση του ποσοστού της εξαγωνικότητας (% Hex) αποτελούν σημεία ενός υπερδραστήριου μηχανισμού αποκατάστασης τραύματος που σχετίζεται με επακόλουθη μείωση της πυκνότητας των ενδοθηλιακών κυττάρων και θεωρούνται ως προάγγελοι αυτού. Όταν τα όρια της λειτουργικής εφεδρείας του ενδοθηλίου τελειώνουν, η διαταραγμένη ενδοθηλιακή λειτουργία του κερατοειδούς μπορεί να διαταράξει την ισορροπία της ενυδάτωσης του στρώματος, οδηγώντας σε οίδημα του κερατοειδούς, επηρεάζοντας τη διαφάνεια και μειώνοντας την ευαισθησία αυτού ([128](#), [129](#)). Ο πολυμεγαθισμός και ο πλειομορφισμός επίσης αυξάνονται με την ηλικία ([110](#), [117](#)).

Ένα ενδιαφέρον εύρημα της μελέτης μας, που διερευνήθηκε για πρώτη φορά σε NF1 ασθενείς, ήταν ότι οι CV και AVG ήταν στατιστικά σημαντικά χαμηλότεροι στους NF1 συγκριτικά με τους υγιείς (P=0.011 και P=0.038, αντίστοιχα). Επιπλέον, στατιστικά σημαντικά υψηλότερο ήταν το ποσοστό εξαγωνικότητας των ενδοθηλιακών κυττάρων στους NF1 σε σύγκριση με τους υγιείς (P=0.025). Ένας κερατοειδής με αυτά τα χαρακτηριστικά έχει μεγαλύτερο λειτουργικό απόθεμα ενδοθηλιακών κυττάρων και επομένως έχει το προνόμιο να αντέχει συνθήκες stress όπως παρατεταμένο ή επιπλεγμένο οφθαλμικό χειρουργείο,

σοβαρό τραύμα, ακόμα και γλαύκωμα ή ραγοειδίτιδα ([130](#), [131](#)). Επιπλέον έρευνα απαιτείται για να επιβεβαιώσει αυτή την έμμεση υπόθεση και να ορίσει τη δυνητικά κλινική εφαρμογή της. Τέλος, όσον αφορά το κεντρικό πάχος του κερατοειδούς, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ NF1 ασθενών και υγιών ($P=0.935$), το οποίο είναι σε συμφωνία με τα ευρήματα της μελέτης που διεξήχθη από τον Duru και τους συνεργάτες του ([132](#)) σε 17 NF1 ασθενείς και 17 υγιείς ματσαρισμένους ως προς την ηλικία και το φύλο ($P=0.875$).

5. Συμπεράσματα

Τα αποτελέσματα της μελέτης μας δείχνουν ότι το ενδοθήλιο του κερατοειδούς έχει πιο ευνοϊκά μορφολογικά χαρακτηριστικά σε NF1 ασθενείς συγκριτικά με υγιείς της ίδιας ηλικίας. Ωστόσο, μελλοντικές προοπτικές μελέτες με μεγαλύτερα μεγέθη πληθυσμού θα πρέπει να διεξαχθούν για να επιβεβαιώσουν τα ευρήματά μας και να διευκρινίσουν τους υποκείμενους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς που οδηγούν στις παραπάνω αλλοιώσεις του κερατοειδούς σε αυτόν τον πληθυσμό. Η *in vitro* μελέτη του ενδοθηλίου του κερατοειδούς σε NF1 ασθενείς μετά το θάνατο θα ήταν ένα δύσκολο και μακροχρόνιο έργο, δεδομένης της σπανιότητας της νόσου, αλλά και μια πολύ φιλόδοξη ιδέα που αφορά τη θεραπευτική αντιμετώπιση ασθενών που χρειάζονται μεταμόσχευση λόγω ενδοθηλιακής δυστροφίας ή ενδοθηλιακής βλάβης μετά από τραύμα ή χειρουργείο.

Γ. ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΟΥ

1. Εισαγωγή - Περιγραφή και Αντιμετώπιση Περιστατικού

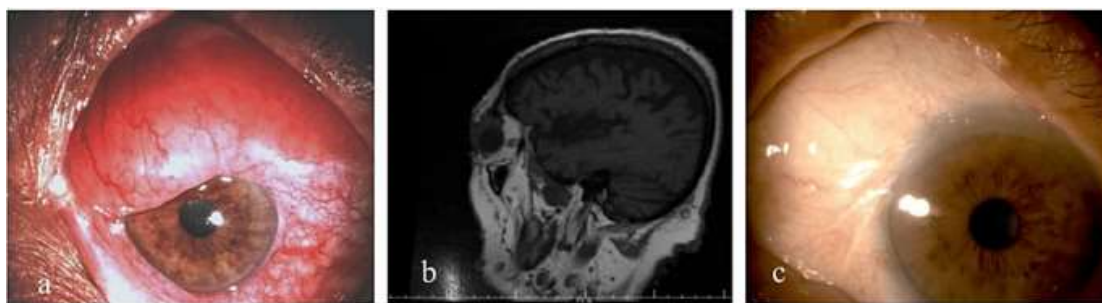
Οι NF1 ασθενείς έχουν αυξημένο κίνδυνο να αναπτύξουν κακοήθειες λόγω της απώλειας λειτουργίας του ογκοκατασταλτικού γονιδίου που κωδικοποιεί τη

νευροφιμπρίνη μια σημαντική πρωτεΐνη στο RAS/ενεργοποιημένης από τη μιτογόνο πρωτεϊνική κινάση (MAPK) μονοπάτι (10). Μεταξύ των μη-αιματολογικών κακοηθειών που συναντώνται συχνά στους NF1 ασθενείς είναι τα σαρκώματα μαλακών ιστών, κυρίως οι κακοήθεις όγκοι του περιφερικού νευρικού ελύτρου ή τα ραβδομυοσαρκώματα μαζί με όγκους του γαστρεντερικού στρώματος, γλωμαγγειώματα και αυτοί που επηρεάζουν το κεντρικό νευρικό σύστημα (14, 15). Αν και οι NF1 ασθενείς έχουν 5-10πλάσια αύξηση του σχετικού κινδύνου για μη-Hodgkin λεμφώματα (non-Hodgkin lymphoma-NHL), δεν υπάρχουν καταγεγραμμένες περιπτώσεις επιπεφυκοτικής προσβολής στα πλαίσια NHL μέχρι τώρα. Θα περιγράψουμε την πρώτη τεκμηριωμένη περίπτωση της Κλινικής μας, ενός ηλικιωμένου NF1 ασθενούς με μη-Hodgkin εξωλεμφαδενικό λέμφωμα Β-προέλευσης από κύτταρα οριακής ζώνης (extranodal marginal-zone lymphoma-EMZL) με πλασματοκυτταρική διαφοροποίηση με παρουσία μονοκλωνικής IgM παραπρωτεΐνης 1160mg/dl, χωρίς συστηματική προσβολή.

Άνδρας 76 χρονών, με ιστορικό NF1 από παιδική ηλικία προσήλθε με μια ανώδυνη επιπεφυκοτική μάζα στον κόγχχο του αριστερού του οφθαλμού και η οποία είχε αναπτυχθεί τους τελευταίους 6 μήνες. Μέχρι να συμβεί αυτό ήταν υγιής με μόνο ήπια επίδραση από τη NF1 και χωρίς αναφερόμενη συστηματική νεοπλασία. Κατά τη εξέταση με τη σχισμοειδή λυχνία παρατηρήθηκε μια μάζα που ξεκινούσε από το άνω ρινικό κογχικό επιπεφυκότα και η οποία εκτείνονταν μέχρι το γειτονικό κερατοειδή και σκληροκερατοειδές όριο, συνοδευόμενη από διάχυτη υπεραϊμία (Εικόνα 10a). Το βάθος του προσθίου θαλάμου ήταν φυσιολογικό χωρίς στοιχεία φλεγμονής, η ενδοφθάλμια πίεση με το τονόμετρο επαφής ήταν εντός φυσιολογικών ορίων και η βυθοσκόπηση χωρίς παθολογικά ευρήματα. Ωστόσο, η οπτική του οξύτητα ήταν 4/10 λόγω προχωρημένου πυρηνικού καταρράκτη. Ο ασθενής

υπεβλήθη σε μαγνητική εγκεφάλου και κόγχων, η οποία επιβεβαίωσε μια ομοιογενή, μονοεστιακή μάζα με λεία οφθαλμικά όρια. Είναι σημαντικό ότι η παραπάνω απεικόνιση απέκλεισε την ενδονευρική διασπορά του όγκου ή τη διήθηση εξωφθάλμιων μυών (**Εικόνα 10b**). Με δεδομένο ότι καμία απεικονιστική μέθοδος δεν μπορούσε να παρέχει οριστική διαφορική διάγνωση, ελήφθη η απόφαση της χειρουργικής βιοψίας εκτομής. Εφαρμόστηκε λεπτομερής διατομή του επιπεφυκότα για να διαχωριστεί ο όγκος, ακολούθησε ευρεία εκτομή με κάποια όρια επεκτεινόμενη μέχρι τον ισημερινό. Η περιοχή γύρω από το σκληροκερατοειδές όριο καλύφθηκε από κομμάτι αμνιακής μεμβράνης και έκλεισε με τη χρήση ινικής κόλλας (TISSEEL) και 10.0 nylon ράμμα (**Εικόνα 10c**).

Μετά την εκτομή, η βλάβη χαρτογραφήθηκε, οριοθετήθηκε, τοποθετήθηκε σε φορμαλίνη και στάλθηκε για ιστολογική και ανοσοφαινοτυπική ανάλυση. Τα αποτελέσματα επιβεβαίωσαν χαμηλής κακοήθειας NHL Β-κυττάρων, συμβατό με EMZL επιπεφυκότα με πλασματοκυτταρική διαφοροποίηση και παρουσία IgM παραπρωτεΐνης 1160mg/dl. Μετεγχειρητικά, ο ασθενής έλαβε τοπική αντιβιοτική κάλυψη μετά τα ιστοπαθολογικά αποτελέσματα. Ακολούθησε παραπομπή σε αιματο-ογκολόγο για σταδιοποίηση και εκτίμηση της έκτασης της νόσου σε αυτό το σημείο. Ο ασθενής υπεβλήθη σε συνδυασμένη χημειο-ανοσοθεραπεία, που περιελάμβανε 6 κύκλους ριτουξιμάμπης και χλωραμβουκίλης, ακολουθούμενη από επιπλέον 6 κύκλους χλωραμβουκίλης (10mg από το στόμα για 10 μέρες το μήνα). Δε χρειάστηκε εφαρμογή ακτινοθεραπείας. Οι αιματολογικοί και απεικονιστικοί έλεγχοι που ακολούθησαν έδειξαν ύφεση μέχρι και σήμερα. Ο ασθενής υπέγραψε γραπτή συγκατάθεση για τη δημοσίευση της περίπτωσης του καθώς και των συνοδών φωτογραφιών από το ιστορικό του.



Εικόνα 10: (a) Φωτογραφία από τη σχισμοειδή λυχνία του αριστερού οφθαλμού του NF1 ασθενούς μας με το επιπεφυκτικό EMZL, (b) Μαγνητική εγκεφάλου πριν τη θεραπεία, (c) Φωτογραφία από τη σχισμοειδή λυχνία του αριστερού οφθαλμού μετά την εκτομή του όγκου

2. Συζήτηση-Συμπεράσματα

Παρουσιάσαμε ένα περιστατικό με έναν 76χρονο άνδρα με NF1 που διεγνώσθη με NHL Β-κυττάρων στον επιπεφυκότα του αριστερού του οφθαλμού, συμβατό με EMZL με πλασματοκυτταρική διαφοροποίηση με συνοδό παρουσία μονοκλωνικής IgM παραπρωτεΐνης 1160mg/dl, χωρίς συστηματική προσβολή. Ο κίνδυνος κακοήθειας στους NF1 ασθενείς παραμένει άγνωστος, με εκτιμήσεις που κυμαίνονται από 3% έως 48% και πάνω από 4πλάσια αύξηση του κινδύνου συγκριτικά με το γενικό πληθυσμό (14). Επιπλέον, στις αιματολογικές κακοήθειες, μεγάλες παιδιατρικές μελέτες πληθυσμού έχουν αναφέρει αύξηση του κινδύνου για NHL μεταξύ παιδιών με NF1 (133), αν και προσβολή με NHL του επιπεφυκότα σε NF1 ασθενείς δεν έχει καταγραφεί μέχρι σήμερα.

Η ογκογένεση στη NF1 περιλαμβάνει διάφορους μηχανισμούς, ένας εκ των οποίων είναι η απορρύθμιση της Ras σηματοδότησης, μιας μικρής περιοχής εντός της νευροφιμπρομίνης που περιέχει μια πρωτεΐνη που ενεργοποιεί την τριφωσφατάση της γουανωσίνης και ρυθμίζει τη σηματοδότηση Ras/raf/ERK και συνεπώς την κυτταρική ανάπτυξη και διαφοροποίηση. Οι NF1 ασθενείς έχουν ήδη μια σωματική

μετάλλαξη στο ένα αλληλίο του NF1 γονιδίου και εάν και το άλλο αλληλίο απενεργοποιηθεί από μια μετάλλαξη, χάνεται ο έλεγχος του p21 Ras συνεισφέροντας σε ανάπτυξη κακοήθειας (θεωρία του δεύτερου χτυπήματος-second-hit theory) (134). Η σηματοδότηση Ras έχει βρεθεί ότι εμπλέκεται στο 30% όλων των τύπων καρκίνου. Από την άλλη πλευρά, μια μελέτη που διεξήχθη από το Sharira και τους συνεργάτες του (135), αποκάλυψε ότι η νευροφιμπρομίνη είναι μια περίπλοκη πρωτεΐνη με πολλαπλές λειτουργίες μη πλήρως κατανοητές που παίζει ρόλο στη ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Στο πείραμά τους, οι αναστολείς Ras που χρησιμοποιήθηκαν σε κύτταρα με NF1 μεταλλάξεις δεν προκάλεσαν απόπτωση, σε αντίθεση με τις προσδοκίες, αν το μονοπάτι της απόπτωσης ήταν μόνο Ras εξαρτώμενο. Επιπλέον, η νευροφιμπρομίνη φαίνεται να εμπλέκεται στην παραγωγή του cAMP. Ο Dasgupta και οι συνεργάτες του (136) απέδειξαν ότι οι NF1 μεταλλάξεις σε ποντίκια οδηγούν σε μείωση της παραγωγής του cAMP και συνεπώς περιορισμένο έλεγχο της κυτταρικής ανάπτυξης. Σωματικές μεταλλάξεις του NF1 γονιδίου έχουν επίσης αναφερθεί σε όγκους που ανευρίσκονται σε ασθενείς χωρίς NF1, υπογραμμίζοντας έτσι το ρόλο της νευροφιμπρομίνης (18).

Τα NHL είναι μια ποικιλόμορφη ομάδα λεμφοϋπερπλαστικών νοσημάτων που τυπικά επηρεάζουν λεμφαδενικά και εξωλεμφαδενικά σημεία, παρουσιάζοντας διάφορα μη ειδικά κλινικά χαρακτηριστικά και επιδρώντας κυρίως στα B-λεμφοκύτταρα (137). Ο υψηλός κίνδυνος λεμφικών νοσημάτων στη NF1 είναι περίπλοκος, δεδομένου ότι αυτές οι κακοήθειες δεν περιλαμβάνουν κυρίως κύτταρα που προέρχονται από τη νευρική ακρολοφία (138). Αν και πειστικές αποδείξεις γι αυτή τη συσχέτιση δεν υπάρχουν, σύμφωνα με έρευνες σε ποντίκια, τα ομόλογα των 2 γονιδίων που είναι ενσωματωμένα στο NF1 γονίδιο, EV12A και EV12B, εμπλέκονται στη γένεση λευχαιμιών στα ζώα αυτά και εκφράζονται στα ανθρώπινα

λευκά αιμοσφαίρια και στο μυελό των οστών. Επιπλέον, γενετική χαρτογράφηση απαιτείται για τη διερεύνηση αυτής της υπόθεσης.

Ο επιπεφυκότας, έχει ειδικό λεμφικό ιστό, ο οποίος δρα ως φραγμός στα αντιγόνα του συστήματος MALT (mucosa-associated lymphoid tissue) (139). Τα λεμφώματα του επιπεφυκότα ανήκουν κυρίως στην κατηγορία των εξωλεμφαδενικών NHL, με τον πιο συχνό υπότυπο να είναι το EMZL του MALT τύπου (66%) (140). Αυτός ο τύπος προέρχεται από νεοπλασματικά μετασχηματισμένα κύτταρα οριακής ζώνης σε αντιδραστικά θυλάκια (141). Κλινικά, το EMZL παρουσιάζει μια ήπια πορεία και είναι μια νόσος που κυρίως επηρεάζει τους ηλικιωμένους (142). Η μέθοδος εκλογής για τη διάγνωση των λεμφωμάτων του επιπεφυκότα είναι η βιοψία διατομής, που επιτρέπει ιστοπαθολογική και κυτταρολογική εξέταση. Ωστόσο, στην περίπτωση μας επιλέξαμε τη χειρουργική βιοψία εκτομής λόγω του μικρού μεγέθους του όγκου, της καλά περιγεγραμμένης φύσης αυτού καθώς και της απουσία ενδείξεων συστηματικού λεμφώματος.

Τα οφθαλμικά EMZL τυπικά παρουσιάζονται με έναν περιορισμένο αριθμό ενδεικτικών σημείων, όπως κηλίδες δίκην σολωμού, ύπουλη ανώδυνη ανάπτυξη, κογχική μάζα, ενόχληση, ερυθρότητα και συμπτώματα που θυμίζουν φλεγμονή. Πιο συχνά οι εκδηλώσεις αυτές παρουσιάζονται μονόπλευρα, με αμφοτερόπλευρη εμφάνιση στο 13% μόνο των περιπτώσεων. Αναφορικά με τη διαφορική διάγνωση αυτής της οντότητας, πρέπει να έχουμε υπ' όψιν τη χρόνια επιπεφυκίτιδα, την αντιδραστική ή άτυπη λεμφοειδή υπερπλασία, το άτυπο πτερύγιο, την επισκληρίτιδα, τη σχετιζόμενη με IgG4 νόσο, τη φλεγμονή του κόγχου και τον κογχικό ψευδοόγκο. Ο κύριος περιορισμός στη παρουσίαση αυτού του περιστατικού, είναι ότι η σπανιότητα των δύο περιγραφόμενων νοσημάτων αποτρέπει τη

συγκέντρωση επιπλέον περιστατικών απαραίτητων για την εδραίωση καταληκτικών αιτιολογικών συσχετίσεων μεταξύ αυτών.

Συμπερασματικά, αυτό το περιστατικό είναι αξιοσημείωτο γιατί τονίζει τη σπουδαιότητα να λαμβάνουμε υπ' όψιν τη διάγνωση του λεμφώματος σε NF1 ασθενείς που παρουσιάζονται με κογχική μάζα, ακολουθούμενη πάντα από βιοψία που θέτει τη διάγνωση. Αν και είναι πιθανό, η NF1 και το επιπεφυκοτικό EMZL να εκδηλώθηκαν ως δύο ξεχωριστές οντότητες στον ασθενή μας, είναι πολύ σημαντικό να γνωρίζουμε ότι η NF1 αποτελεί παράγοντα κινδύνου για τέτοιες κακοήθειες. Η αναγνώριση αυτή είναι ζωτικής σημασίας για την εφαρμογή κατάλληλης διαγνωστικής και θεραπευτικής στρατηγικής.

Δ. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

1. Στην ελληνική γλώσσα

Σκοπός: Η εκτίμηση των μορφολογικών ιδιοτήτων των ενδοθηλιακών κυττάρων του κερατοειδούς καθώς και του κεντρικού πάχους αυτού (CCT) σε ασθενείς με νευροϊνωμάτωση τύπου 1 (NF1) και να τους συγκρίνουμε με υγιείς ματσαρισμένους ως προς την ηλικία.

Μεθοδολογία: Οι 19 NF1 ασθενείς και οι 38 υγιείς που συμμετείχαν στη μελέτη, υπεβλήθησαν σε πλήρη οφθαλμολογικό έλεγχο και κατοπτρική μη-επαφής μικροσκοπία για τον υπολογισμό της πυκνότητας των ενδοθηλιακών κυττάρων (ECD), του συντελεστή μεταβλητότητας του μεγέθους των κυττάρων (CV), του μέσου όρου του μεγέθους των κυττάρων (AVG), του ποσοστού εξαγωνικότητας των κυττάρων, και του CCT. Οφθαλμοί με προηγούμενο οφθαλμικό τραύμα, φλεγμονή ή χειρουργείο και προϋπάρχοντα νοσήματα του κερατοειδούς και της οφθαλμικής επιφάνειας αποκλείστηκαν.

Αποτελέσματα: Οι NF1 ασθενείς είχαν μεγαλύτερη ECD σε σύγκριση με τους υγιείς ίδιας ηλικίας (2764.2 ± 270.4 έναντι 2570.4 ± 449.2 cells/mm², αντίστοιχα) αν και σε οριακό επίπεδο ($P=0.051$). Οι NF1 ασθενείς είχαν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερο CV και AVG σε σύγκριση με τους υγιείς (32.9 ± 4.6 έναντι $37.8 \pm 9.5\%$, $P = 0.011$ και 364.9 ± 34.4 έναντι 406.0 ± 107.4 μm², $P = 0.038$, αντίστοιχα). Οι NF1 ασθενείς είχαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερο ποσοστό εξαγωνικότητας συγκριτικά με τους υγιείς (55.7 ± 6.5 έναντι $50.5 \pm 9.9\%$, $P = 0.025$). Το CCT ήταν ίδιο μεταξύ των δύο ομάδων ($P=0.955$).

Συμπεράσματα: Τα ευρήματα μας δείχνουν ότι το ενδοθήλιο του κερατοειδούς έχει πιο ευνοϊκά μορφολογικά χαρακτηριστικά στους NF1 ασθενείς σε σύγκριση με τους υγιείς της ίδιας ηλικίας.

Επίσης, παρουσιάσαμε ένα περιστατικό ανώδυνης επιπεφυκοτικής μάζας στον κόγχο εξαιτίας μη-Hodgkin λεμφώματος Β-κυττάρων χωρίς συστηματική συμμετοχή σε έναν 76-χρονο άνδρα. Αφού πραγματοποιήθηκε βιοψία εκτομής, ιστοπαθολογική εξέταση και ανοσοϊστοχημικός έλεγχος, ο ασθενής παραπέμφθηκε για αιματο-ογκολογική εκτίμηση. Στη συνέχεια, υποβλήθηκε σε εργαστηριακές και απεικονιστικές εξετάσεις και έλαβε συνδυασμένη χημειο-ανοσοθεραπεία που οδήγησε σε πλήρη ύφεση μέχρι σήμερα. Το περιστατικό αυτό παρουσιάστηκε καθώς είναι κρίσιμης σημασίας να αναγνωρίζουμε ότι μπορεί να εμφανιστεί προσβολή του επιπεφυκότα σε NF1 ασθενείς.

2. Abstract

Purpose: The aim of this study was to evaluate the morphological properties of corneal endothelial cells and central corneal thickness (CCT) in patients

with neurofibromatosis type 1 (NF1) and to compare them with age-matched healthy controls.

Methods: Nineteen NF1 patients and 38 healthy individuals were recruited. All participants underwent complete ophthalmological examination as well as noncontact specular microscopy to measure endothelial cell density (ECD), average cell area (AVG), coefficient of variation of cell area (CV), the percentage of hexagonal cells, and CCT. Eyes with previous ocular trauma, inflammation or surgery, and preexisting corneal and ocular surface diseases were excluded.

Results: NF1 patients had higher ECD compared to healthy controls of the same age (2764.2 ± 270.4 versus 2570.4 ± 449.2 cells/mm², respectively), although at a borderline level ($P = 0.051$). Patients with NF1 presented significantly lower CV and AVG when compared to controls (32.9 ± 4.6 versus $37.8 \pm 9.5\%$, $P = 0.011$ and 364.9 ± 34.4 versus 406.0 ± 107.4 μm², $P = 0.038$, respectively). The NF1 group had significantly higher hexagonality in comparison with controls (55.7 ± 6.5 versus $50.5 \pm 9.9\%$, $P = 0.025$). CCT was similar between the two groups ($P = 0.955$).

Conclusion: Our results show that corneal endothelium has more favorable morphological characteristics in NF1 patients compared to healthy individuals of the same age.

We also presented a case of painless bulbar conjunctival mass due to B-cell non-Hodgkin lymphoma (NHL), without systemic involvement, in a 76-year-old man. Following an excision biopsy, histopathologic examination and immunohistochemistry confirmed the diagnosis, prompting a referral for hematological assessment. The patient underwent comprehensive laboratory and imaging scans, subsequently receiving combined chemo-immunotherapy that resulted

in complete remission to date. This case is reported as it is crucial to recognize that a conjunctival insult might emerge in neurofibromatosis type 1 (NF1) patients.

E. ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟΥ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

1. Florou C, Aissopou E, Chalkiadaki E, Andreanos K, Koutsandrea C, Papakonstantinou D, Georgalas I. Corneal endothelial cells and central corneal thickness in patients with neurofibromatosis type 1. *Indian J. Ophthalmol.* 2021 Jun;69(6):1522-1526. doi: 10.4103/ijo.IJO_1967_20.

2. Florou C, Aissopou E, Papakonstantinou E, Georgalas I, Droutsas K. Conjunctival Marginal Zone Lymphoma in a Patient with Neurofibromatosis Type 1: A Case Report. *Cureus.* doi: 10.7759/cureus.49491.

ΣΤ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1. Chernoff KA, Schaffer JV. Cutaneous and ocular manifestations of neurocutaneous syndromes. Clin Dermatol. 2016 Mar-Apr;34(2):183-204.**
- 2. Abdolrahimzadeh B, Piraino DC, Albanese G, Cruciani F, Rahimi S. Neurofibromatosis: an update of ophthalmic characteristics and applications of optical coherence tomography. Clin Ophthalmol. 2016;10:851-60.**
- 3. Bianucci R, Perciaccante A, Appenzeller O. Painting neurofibromatosis type 1 in the 15th century. Lancet Neurol. 2016 Oct;15(11):1123.**
- 4. Yohay KH. The genetic and molecular pathogenesis of NF1 and NF2. Semin Pediatr Neurol. 2006 Mar;13(1):21-6.**
- 5. Douglas KAA, Douglas VP, Cestari DM. Neuro-ophthalmic manifestations of the phakomatoses. Curr Opin Ophthalmol. 2019 Nov;30(6):434-42.**
- 6. Evans DG, Howard E, Giblin C, Clancy T, Spencer H, Huson SM, et al. Birth incidence and prevalence of tumor-prone syndromes: estimates from a UK family genetic register service. Am J Med Genet A. 2010 Feb;152A(2):327-32.**
- 7. Daston MM, Scrable H, Nordlund M, Sturbaum AK, Nissen LM, Ratner N. The protein product of the neurofibromatosis type 1 gene is expressed at highest abundance in neurons, Schwann cells, and oligodendrocytes. Neuron. 1992 Mar;8(3):415-28.**
- 8. Le LQ, Parada LF. Tumor microenvironment and neurofibromatosis type I: connecting the GAPs. Oncogene. 2007 Jul 12;26(32):4609-16.**
- 9. Kiuru M, Busam KJ. The NF1 gene in tumor syndromes and melanoma. Lab Invest. 2017 Feb;97(2):146-57.**

10. Korf BR. Malignancy in neurofibromatosis type 1. *Oncologist*. 2000;5(6):477-85.
11. Gutmann DH, Ferner RE, Listernick RH, Korf BR, Wolters PL, Johnson KJ. Neurofibromatosis type 1. *Nat Rev Dis Primers*. 2017 Feb 23;3:17004.
12. Kinori M, Hodgson N, Zeid JL. Ophthalmic manifestations in neurofibromatosis type 1. *Surv Ophthalmol*. 2018 Jul - Aug;63(4):518-33.
13. Neurofibromatosis. Conference statement. National Institutes of Health Consensus Development Conference. *Arch Neurol*. 1988 May;45(5):575-8.
14. Barbaric D, Stevens M, Dalla-Pozza L. Neurofibromatosis type 1 and multiple primary malignancies. *Med Pediatr Oncol*. 2003 Dec;41(6):568-9.
15. Evans DG, Baser ME, McGaughan J, Sharif S, Howard E, Moran A. Malignant peripheral nerve sheath tumours in neurofibromatosis 1. *J Med Genet*. 2002 May;39(5):311-4.
16. Lammert M, Friedman JM, Kluwe L, Mautner VF. Prevalence of neurofibromatosis 1 in German children at elementary school enrollment. *Arch Dermatol*. 2005 Jan;141(1):71-4.
17. Listernick R, Ferner RE, Liu GT, Gutmann DH. Optic pathway gliomas in neurofibromatosis-1: controversies and recommendations. *Ann Neurol*. 2007 Mar;61(3):189-98.
18. Savar A, Cestari DM. Neurofibromatosis type I: genetics and clinical manifestations. *Semin Ophthalmol*. 2008 Jan-Feb;23(1):45-51.
19. Lazaro C, Ravella A, Gaona A, Volpini V, Estivill X. Neurofibromatosis type 1 due to germ-line mosaicism in a clinically normal father. *N Engl J Med*. 1994 Nov 24;331(21):1403-7.

20. Trovo-Marqui AB, Tajara EH. Neurofibromin: a general outlook. *Clin Genet.* 2006 Jul;70(1):1-13.
21. Messiaen LM, Callens T, Mortier G, Beysen D, Vandenbroucke I, Van Roy N, et al. Exhaustive mutation analysis of the NF1 gene allows identification of 95% of mutations and reveals a high frequency of unusual splicing defects. *Hum Mutat.* 2000;15(6):541-55.
22. Hirbe AC, Gutmann DH. Neurofibromatosis type 1: a multidisciplinary approach to care. *Lancet Neurol.* 2014 Aug;13(8):834-43.
23. Gutmann DH, Collins FS. The neurofibromatosis type 1 gene and its protein product, neurofibromin. *Neuron.* 1993 Mar;10(3):335-43.
24. Ruggieri M, Packer RJ. Why do benign astrocytomas become malignant in NF1? *Neurology.* 2001 Apr 10;56(7):827-9.
25. Ruggieri M, Pavone P, Polizzi A, Di Pietro M, Scuderi A, Gabriele A, et al. Ophthalmological manifestations in segmental neurofibromatosis type 1. *Br J Ophthalmol.* 2004 Nov;88(11):1429-33.
26. Hernandez-Martin A, Duat-Rodriguez A. An Update on Neurofibromatosis Type 1: Not Just Cafe-au-Lait Spots, Freckling, and Neurofibromas. An Update. Part I. Dermatological Clinical Criteria Diagnostic of the Disease. *Actas Dermosifiliogr.* 2016 Jul-Aug;107(6):454-64.
27. Gutmann DH, Aylsworth A, Carey JC, Korf B, Marks J, Pyeritz RE, et al. The diagnostic evaluation and multidisciplinary management of neurofibromatosis 1 and neurofibromatosis 2. *JAMA.* 1997 Jul 2;278(1):51-7.
28. Huson SM, Harper PS, Compston DA. Von Recklinghausen neurofibromatosis. A clinical and population study in south-east Wales. *Brain.* 1988 Dec;111 (Pt 6):1355-81.

29. **Kandt RS. Tuberous sclerosis complex and neurofibromatosis type 1: the two most common neurocutaneous diseases. *Neurol Clin.* 2003 Nov;21(4):983-1004.**
30. **Swick BL. Floret-like multinucleated giant cells in a neurofibromatosis type 1-associated neurofibroma. *Am J Dermatopathol.* 2008 Dec;30(6):632-4.**
31. **Kurien A, John PR, Milford DV. Hypertension secondary to progressive vascular neurofibromatosis. *Arch Dis Child.* 1997 May;76(5):454-5.**
32. **Cichowski K, Jacks T. NF1 tumor suppressor gene function: narrowing the GAP. *Cell.* 2001 Feb 23;104(4):593-604.**
33. **Williamson TH, Garner A, Moore AT. Structure of Lisch nodules in neurofibromatosis type 1. *Ophthalmic Paediatr Genet.* 1991 Mar;12(1):11-7.**
34. **Otsuka F, Kawashima T, Imakado S, Usuki Y, Hon-Mura S. Lisch nodules and skin manifestation in neurofibromatosis type 1. *Arch Dermatol.* 2001 Feb;137(2):232-3.**
35. **Beauchamp GR. Neurofibromatosis type 1 in children. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 1995;93:445-72.**
36. **Akinci A, Acaroglu G, Guven A, Degerliyurt A. Refractive errors in neurofibromatosis type 1 and type 2. *Br J Ophthalmol.* 2007 Jun;91(6):746-8.**
37. **Joyce NC, Harris DL, Mello DM. Mechanisms of mitotic inhibition in corneal endothelium: contact inhibition and TGF-beta2. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002 Jul;43(7):2152-9.**
38. **Mehta D, Malik AB. Signaling mechanisms regulating endothelial permeability. *Physiol Rev.* 2006 Jan;86(1):279-367.**

39. Barnett C, Alon T, Abraham A, Kim RH, McCuaig JM, Kongkham P, et al. Evidence of small-fiber neuropathy in neurofibromatosis type 1. *Muscle Nerve*. 2019 Dec;60(6):673-8.
40. Insler MS, Helm C, Napoli S. Conjunctival hamartoma in neurofibromatosis. *Am J Ophthalmol*. 1985 Jun 15;99(6):731-3.
41. To KW, Rabinowitz SM, Friedman AH, Merker C, Cavanaugh CP. Neurofibromatosis and neural crest neoplasms: primary acquired melanosis and malignant melanoma of the conjunctiva. *Surv Ophthalmol*. 1989 Mar-Apr;33(5):373-9.
42. Grant WM, Walton DS. Distinctive gonioscopic findings in glaucoma due to neurofibromatosis. *Arch Ophthalmol*. 1968 Feb;79(2):127-34.
43. Greenwald MJ, Paller AS. Ocular and dermatologic manifestation of neurocutaneous syndromes. *Dermatol Clin*. 1992 Jul;10(3):623-39.
44. Burke JP, Leitch RJ, Talbot JF, Parsons MA. Choroidal neurofibromatosis with congenital iris ectropion and buphthalmos: relationship and significance. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus*. 1991 Sep-Oct;28(5):265-7.
45. Morales J, Chaudhry IA, Bosley TM. Glaucoma and globe enlargement associated with neurofibromatosis type 1. *Ophthalmology*. 2009 Sep;116(9):1725-30.
46. Destro M, D'Amico DJ, Gragoudas ES, Brockhurst RJ, Pinnolis MK, Albert DM, et al. Retinal manifestations of neurofibromatosis. Diagnosis and management. *Arch Ophthalmol*. 1991 May;109(5):662-6.
47. Karadimas P, Hatzispasou E, Bouzas EA. Retinal vascular abnormalities in neurofibromatosis type 1. *J Neuroophthalmol*. 2003 Dec;23(4):274-5.

48. Muci-Mendoza R, Ramella M, Fuenmayor-Rivera D. Corkscrew retinal vessels in neurofibromatosis type 1: report of 12 cases. *Br J Ophthalmol.* 2002 Mar;86(3):282-4.
49. Parrozzani R, Pilotto E, Clementi M, Frizziero L, Leonardi F, Convento E, et al. RETINAL VASCULAR ABNORMALITIES IN A LARGE COHORT OF PATIENTS AFFECTED BY NEUROFIBROMATOSIS TYPE 1: A Study Using Optical Coherence Tomography Angiography. *Retina.* 2018 Mar;38(3):585-93.
50. Rescaldani C, Nicolini P, Fatigati G, Bottoni FG. Clinical application of digital indocyanine green angiography in choroidal neurofibromatosis. *Ophthalmologica.* 1998;212(2):99-104.
51. Yasunari T, Shiraki K, Hattori H, Miki T. Frequency of choroidal abnormalities in neurofibromatosis type 1. *Lancet.* 2000 Sep 16;356(9234):988-92.
52. Viola F, Villani E, Natacci F, Selicorni A, Melloni G, Vezzola D, et al. Choroidal abnormalities detected by near-infrared reflectance imaging as a new diagnostic criterion for neurofibromatosis 1. *Ophthalmology.* 2012 Feb;119(2):369-75.
53. Blazo MA, Lewis RA, Chintagumpala MM, Frazier M, McCluggage C, Plon SE. Outcomes of systematic screening for optic pathway tumors in children with Neurofibromatosis Type 1. *Am J Med Genet A.* 2004 Jun 15;127A(3):224-9.
54. Kleihues P, Louis DN, Scheithauer BW, Rorke LB, Reifenberger G, Burger PC, et al. The WHO classification of tumors of the nervous system. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2002 Mar;61(3):215-25; discussion 26-9.

55. Liu GT. Optic gliomas of the anterior visual pathway. *Curr Opin Ophthalmol.* 2006 Oct;17(5):427-31.
56. Leonard JR, Perry A, Rubin JB, King AA, Chicoine MR, Gutmann DH. The role of surgical biopsy in the diagnosis of glioma in individuals with neurofibromatosis-1. *Neurology.* 2006 Oct 24;67(8):1509-12.
57. Balcer LJ, Liu GT, Heller G, Bilaniuk L, Volpe NJ, Galetta SL, et al. Visual loss in children with neurofibromatosis type 1 and optic pathway gliomas: relation to tumor location by magnetic resonance imaging. *Am J Ophthalmol.* 2001 Apr;131(4):442-5.
58. Prada CE, Hufnagel RB, Hummel TR, Lovell AM, Hopkin RJ, Saal HM, et al. The Use of Magnetic Resonance Imaging Screening for Optic Pathway Gliomas in Children with Neurofibromatosis Type 1. *J Pediatr.* 2015 Oct;167(4):851-6 e1.
59. Ferner RE, Huson SM, Thomas N, Moss C, Willshaw H, Evans DG, et al. Guidelines for the diagnosis and management of individuals with neurofibromatosis 1. *J Med Genet.* 2007 Feb;44(2):81-8.
60. Avery RA, Katowitz JA, Fisher MJ, Heidary G, Dombi E, Packer RJ, et al. Orbital/Periorbital Plexiform Neurofibromas in Children with Neurofibromatosis Type 1: Multidisciplinary Recommendations for Care. *Ophthalmology.* 2017 Jan;124(1):123-32.
61. Kobrin JL, Blodi FC, Weingeist TA. Ocular and orbital manifestations of neurofibromatosis. *Surv Ophthalmol.* 1979 Jul-Aug;24(1):45-51.
62. Jackson IT, Carbonnel A, Potparic Z, Shaw K. Orbitotemporal neurofibromatosis: classification and treatment. *Plast Reconstr Surg.* 1993 Jul;92(1):1-11.

63. Williams VC, Lucas J, Babcock MA, Gutmann DH, Korf B, Maria BL. Neurofibromatosis type 1 revisited. *Pediatrics*. 2009 Jan;123(1):124-33.
64. Chaudhry IA, Morales J, Shamsi FA, Al-Rashed W, Elzaridi E, Arat YO, et al. Orbitofacial neurofibromatosis: clinical characteristics and treatment outcome. *Eye (Lond)*. 2012 Apr;26(4):583-92.
65. Lee V, Ragge NK, Collin JR. Orbitotemporal neurofibromatosis. Clinical features and surgical management. *Ophthalmology*. 2004 Feb;111(2):382-8.
66. Gandhi NG. Treatment of neuro-ophthalmic and orbitofacial manifestations of neurofibromatosis type 1. *Curr Opin Ophthalmol*. 2013 Sep;24(5):506-11.
67. Oystreck DT, Morales J, Chaudhry I, Alorainy IA, Elkhamary SM, Pasha TM, et al. Visual loss in orbitofacial neurofibromatosis type 1. *Ophthalmology*. 2012 Oct;119(10):2168-73.
68. Crawford AH, Schorry EK. Neurofibromatosis in children: the role of the orthopaedist. *J Am Acad Orthop Surg*. 1999 Jul-Aug;7(4):217-30.
69. Davis FA. Plexiform Neurofibromatosis (von Recklinghausen's Disease) of the Orbit and Globe, with Associated Glioma of the Optic Nerve and Brain: Report of a Case. *Trans Am Ophthalmol Soc*. 1939;37:250-71.
70. Erb MH, Uzcategui N, See RF, Burnstine MA. Orbitotemporal neurofibromatosis: classification and treatment. *Orbit*. 2007 Dec;26(4):223-8.
71. Ducatman BS, Scheithauer BW, Piepgras DG, Reiman HM, Ilstrup DM. Malignant peripheral nerve sheath tumors. A clinicopathologic study of 120 cases. *Cancer*. 1986 May 15;57(10):2006-21.
72. Jakacki RI, Dombi E, Steinberg SM, Goldman S, Kieran MW, Ullrich NJ, et al. Phase II trial of pegylated interferon alfa-2b in young patients with

neurofibromatosis type 1 and unresectable plexiform neurofibromas. *Neuro Oncol.* 2017 Feb 1;19(2):289-97.

73. Robertson KA, Nalepa G, Yang FC, Bowers DC, Ho CY, Hutchins GD, et al. Imatinib mesylate for plexiform neurofibromas in patients with neurofibromatosis type 1: a phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2012 Dec;13(12):1218-24.

74. Fisher MJ, Loguidice M, Gutmann DH, Listernick R, Ferner RE, Ullrich NJ, et al. Visual outcomes in children with neurofibromatosis type 1-associated optic pathway glioma following chemotherapy: a multicenter retrospective analysis. *Neuro Oncol.* 2012 Jun;14(6):790-7.

75. Astrup J. Natural history and clinical management of optic pathway glioma. *Br J Neurosurg.* 2003 Aug;17(4):327-35.

76. Avery RA, Fisher MJ, Liu GT. Optic pathway gliomas. *J Neuroophthalmol.* 2011 Sep;31(3):269-78.

77. Jahraus CD, Tarbell NJ. Optic pathway gliomas. *Pediatr Blood Cancer.* 2006 May 1;46(5):586-96.

78. Packer RJ, Lange B, Ater J, Nicholson HS, Allen J, Walker R, et al. Carboplatin and vincristine for recurrent and newly diagnosed low-grade gliomas of childhood. *J Clin Oncol.* 1993 May;11(5):850-6.

79. Lafay-Cousin L, Holm S, Qaddoumi I, Nicolin G, Bartels U, Tabori U, et al. Weekly vinblastine in pediatric low-grade glioma patients with carboplatin allergic reaction. *Cancer.* 2005 Jun 15;103(12):2636-42.

80. Yu DY, Dahl GV, Shames RS, Fisher PG. Weekly dosing of carboplatin increases risk of allergy in children. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2001 Aug-Sep;23(6):349-52.

81. Kuo DJ, Weiner HL, Wisoff J, Miller DC, Knopp EA, Finlay JL. Temozolomide is active in childhood, progressive, unresectable, low-grade gliomas. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2003 May;25(5):372-8.
82. Sievert AJ, Fisher MJ. Pediatric low-grade gliomas. *J Child Neurol.* 2009 Nov;24(11):1397-408.
83. Massimino M, Spreafico F, Cefalo G, Riccardi R, Tesoro-Tess JD, Gandola L, et al. High response rate to cisplatin/etoposide regimen in childhood low-grade glioma. *J Clin Oncol.* 2002 Oct 15;20(20):4209-16.
84. Gururangan S, Fisher MJ, Allen JC, Herndon JE, 2nd, Quinn JA, Reardon DA, et al. Temozolomide in children with progressive low-grade glioma. *Neuro Oncol.* 2007 Apr;9(2):161-8.
85. Grill J, Couanet D, Cappelli C, Habrand JL, Rodriguez D, Sainte-Rose C, et al. Radiation-induced cerebral vasculopathy in children with neurofibromatosis and optic pathway glioma. *Ann Neurol.* 1999 Mar;45(3):393-6.
86. Sharif S, Ferner R, Birch JM, Gillespie JE, Gattamaneni HR, Baser ME, et al. Second primary tumors in neurofibromatosis 1 patients treated for optic glioma: substantial risks after radiotherapy. *J Clin Oncol.* 2006 Jun 1;24(16):2570-5.
87. Shriver EM, Ragheb J, Tse DT. Combined transcranial-orbital approach for resection of optic nerve gliomas: a clinical and anatomical study. *Ophthalmic Plast Reconstr Surg.* 2012 May-Jun;28(3):184-91.
88. Housepian EM. Surgical treatment of unilateral optic nerve gliomas. *J Neurosurg.* 1969 Dec;31(6):604-7.

89. Wertelecki W, Rouleau GA, Superneau DW, Forehand LW, Williams JP, Haines JL, et al. Neurofibromatosis 2: clinical and DNA linkage studies of a large kindred. *N Engl J Med.* 1988 Aug 4;319(5):278-83.
90. Chan JW. Neuro-ophthalmic features of the neurocutaneous syndromes. *Int Ophthalmol Clin.* 2012 Summer;52(3):73-85, xi.
91. Evans GR, Lloyd SKW, Ramsden RT. Neurofibromatosis type 2. *Adv Otorhinolaryngol.* 2011;70:91-8.
92. Asthagiri AR, Parry DM, Butman JA, Kim HJ, Tsilou ET, Zhuang Z, et al. Neurofibromatosis type 2. *Lancet.* 2009 Jun 6;373(9679):1974-86.
93. Yu CB, Lyons CJ, Dorrell ED, Taylor D. Congenital cavernous sinus syndrome in a child with neurofibromatosis type 2. *Can J Ophthalmol.* 1999 Apr;34(2):101-3.
94. Uhlmann EJ, Plotkin SR. Neurofibromatoses. *Adv Exp Med Biol.* 2012;724:266-77.
95. Plotkin SR, Stemmer-Rachamimov AO, Barker FG, 2nd, Halpin C, Padera TP, Tyrrell A, et al. Hearing improvement after bevacizumab in patients with neurofibromatosis type 2. *N Engl J Med.* 2009 Jul 23;361(4):358-67.
96. Kresak JL, Walsh M. Neurofibromatosis: A Review of NF1, NF2, and Schwannomatosis. *J Pediatr Genet.* 2016 Jun;5(2):98-104.
97. MacCollin M, Chiocca EA, Evans DG, Friedman JM, Horvitz R, Jaramillo D, et al. Diagnostic criteria for schwannomatosis. *Neurology.* 2005 Jun 14;64(11):1838-45.
98. Merker VL, Esparza S, Smith MJ, Stemmer-Rachamimov A, Plotkin SR. Clinical features of schwannomatosis: a retrospective analysis of 87 patients. *Oncologist.* 2012;17(10):1317-22.

99. Boyd C, Smith MJ, Kluwe L, Balogh A, Maccollin M, Plotkin SR. Alterations in the SMARCB1 (INI1) tumor suppressor gene in familial schwannomatosis. *Clin Genet.* 2008 Oct;74(4):358-66.
100. Hadfield KD, Newman WG, Bowers NL, Wallace A, Bolger C, Colley A, et al. Molecular characterisation of SMARCB1 and NF2 in familial and sporadic schwannomatosis. *J Med Genet.* 2008 Jun;45(6):332-9.
101. Knupp C, Pinali C, Lewis PN, Parfitt GJ, Young RD, Meek KM, et al. The architecture of the cornea and structural basis of its transparency. *Adv Protein Chem Struct Biol.* 2009;78:25-49.
102. Dua HS, Faraj LA, Said DG, Gray T, Lowe J. Human corneal anatomy redefined: a novel pre-Descemet's layer (Dua's layer). *Ophthalmology.* 2013 Sep;120(9):1778-85.
103. McKee HD, Irion LC, Carley FM, Brahma AK, Jafarinasab MR, Rahmati-Kamel M, et al. Re: Dua et al.: Human corneal anatomy redefined: a novel pre-Descemet layer (Dua's layer) (*Ophthalmology* 2013;120:1778-85). *Ophthalmology.* 2014 May;121(5):e24-5.
104. Maurice DM. The structure and transparency of the cornea. *J Physiol.* 1957 Apr 30;136(2):263-86.
105. Stiemke MM, Edelhauser HF, Geroski DH. The developing corneal endothelium: correlation of morphology, hydration and Na/K ATPase pump site density. *Curr Eye Res.* 1991 Feb;10(2):145-56.
106. Bourne WM, Nelson LR, Hodge DO. Central corneal endothelial cell changes over a ten-year period. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1997 Mar;38(3):779-82.

107. Van Horn DL, Hyndiuk RA. Endothelial wound repair in primate cornea. *Exp Eye Res.* 1975 Aug;21(2):113-24.
108. Honda H, Ogita Y, Higuchi S, Kani K. Cell movements in a living mammalian tissue: long-term observation of individual cells in wounded corneal endothelia of cats. *J Morphol.* 1982 Oct;174(1):25-39.
109. Fuchsluger TA, Jurkunas U, Kazlauskas A, Dana R. Corneal endothelial cells are protected from apoptosis by gene therapy. *Hum Gene Ther.* 2011 May;22(5):549-58.
110. Yee RW, Matsuda M, Schultz RO, Edelhauser HF. Changes in the normal corneal endothelial cellular pattern as a function of age. *Curr Eye Res.* 1985 Jun;4(6):671-8.
111. Szalai E, Nemeth G, Berta A, Modis L, Jr. Evaluation of the corneal endothelium using noncontact and contact specular microscopy. *Cornea.* 2011 May;30(5):567-70.
112. McCarey BE, Edelhauser HF, Lynn MJ. Review of corneal endothelial specular microscopy for FDA clinical trials of refractive procedures, surgical devices, and new intraocular drugs and solutions. *Cornea.* 2008 Jan;27(1):1-16.
113. Laing RA, Sandstrom MM, Leibowitz HM. Clinical specular microscopy. I. Optical principles. *Arch Ophthalmol.* 1979 Sep;97(9):1714-9.
114. Laing RA, Sandstrom MM, Leibowitz HM. Clinical specular microscopy. II. Qualitative evaluation of corneal endothelial photomicrographs. *Arch Ophthalmol.* 1979 Sep;97(9):1720-5.
115. Maurice DM. Cellular membrane activity in the corneal endothelium of the intact eye. *Experientia.* 1968 Nov 15;24(11):1094-5.

116. Laing RA, Sandstrom MM, Leibowitz HM. In vivo photomicrography of the corneal endothelium. *Arch Ophthalmol.* 1975 Feb;93(2):143-5.
117. Bourne WM. Corneal endothelium--past, present, and future. *Eye Contact Lens.* 2010 Sep;36(5):310-4.
118. Urban B, Bakunowicz-Lazarczyk A, Kretowska M. [Corneal endothelium in children and adolescents with myopia]. *Klin Oczna.* 2002;104(5-6):381-3.
119. Sheng H, Bullimore MA. Factors affecting corneal endothelial morphology. *Cornea.* 2007 Jun;26(5):520-5.
120. Bursell SE, Hultgren BH, Laing RA. Evaluation of the corneal endothelial mosaic using an analysis of nearest neighbor distances. *Exp Eye Res.* 1981 Jan;32(1):31-8.
121. Lwigale PY. Corneal Development: Different Cells from a Common Progenitor. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2015;134:43-59.
122. Moramarco A, Sacchetti M, Franzone F, Segatto M, Cecchetti D, Miraglia E, et al. Ocular surface involvement in patients with neurofibromatosis type 1 syndrome. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2020 May 9.
123. Edward DP, Morales J, Bouhenni RA, Patil J, Edward PR, Cummings TJ, et al. Congenital ectropion uvea and mechanisms of glaucoma in neurofibromatosis type 1: new insights. *Ophthalmology.* 2012 Jul;119(7):1485-94.
124. Viskochil D, Buchberg AM, Xu G, Cawthon RM, Stevens J, Wolff RK, et al. Deletions and a translocation interrupt a cloned gene at the neurofibromatosis type 1 locus. *Cell.* 1990 Jul 13;62(1):187-92.
125. Riccardi VM. Neurofibromatosis: past, present, and future. *N Engl J Med.* 1991 May 2;324(18):1283-5.

126. **Brownstein S, Little JM. Ocular neurofibromatosis. Ophthalmology. 1983 Dec;90(12):1595-9.**
127. **Joyce NC. Proliferative capacity of corneal endothelial cells. Exp Eye Res. 2012 Feb;95(1):16-23.**
128. **Zavala J, Lopez Jaime GR, Rodriguez Barrientos CA, Valdez-Garcia J. Corneal endothelium: developmental strategies for regeneration. Eye (Lond). 2013 May;27(5):579-88.**
129. **Polse KA, Brand RJ, Cohen SR, Guillon M. Hypoxic effects on corneal morphology and function. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1990 Aug;31(8):1542-54.**
130. **Shi Y, Huang J, Baghdasaryan E, Huang P, Huang X, Sadda SR, et al. Representation of Central Endothelial Cell Density by Analysis of Single Best Specular Microscopy Image Regardless of Cell Size Variance. Transl Vis Sci Technol. 2019 May;8(3):23.**
131. **Feizi S. Corneal endothelial cell dysfunction: etiologies and management. Ther Adv Ophthalmol. 2018 Jan-Dec;10:2515841418815802.**
132. **Duru N, Goktas E, Ozkose A, Duru Z, Altunel O, Atas M, et al. Evaluation of anterior segment parameters in patients with neurofibromatosis type 1. Eur J Ophthalmol. 2016 Nov 4;26(6):564-7.**
133. **Shearer P, Parham D, Kovnar E, Kun L, Rao B, Lobe T, et al. Neurofibromatosis type I and malignancy: review of 32 pediatric cases treated at a single institution. Med Pediatr Oncol. 1994;22(2):78-83.**
134. **Colman SD, Wallace MR. Neurofibromatosis type 1. Eur J Cancer. 1994;30A(13):1974-81.**

135. Shapira S, Barkan B, Friedman E, Kloog Y, Stein R. The tumor suppressor neurofibromin confers sensitivity to apoptosis by Ras-dependent and Ras-independent pathways. *Cell Death Differ.* 2007 May;14(5):895-906.
136. Dasgupta B, Gutmann DH. Neurofibromatosis 1: closing the GAP between mice and men. *Curr Opin Genet Dev.* 2003 Feb;13(1):20-7.
137. Tanenbaum RE, Galor A, Dubovy SR, Karp CL. Classification, diagnosis, and management of conjunctival lymphoma. *Eye Vis (Lond).* 2019;6:22.
138. Stiller CA, Chessells JM, Fitchett M. Neurofibromatosis and childhood leukaemia/lymphoma: a population-based UKCCSG study. *Br J Cancer.* 1994 Nov;70(5):969-72.
139. Isaacson P, Wright DH. Extranodal malignant lymphoma arising from mucosa-associated lymphoid tissue. *Cancer.* 1984 Jun 1;53(11):2515-24.
140. McKelvie PA, McNab A, Francis IC, Fox R, O'Day J. Ocular adnexal lymphoproliferative disease: a series of 73 cases. *Clin Exp Ophthalmol.* 2001 Dec;29(6):387-93.
141. Sjo LD. Ophthalmic lymphoma: epidemiology and pathogenesis. *Acta Ophthalmol.* 2009 Feb;87 Thesis 1:1-20.
142. McGrath LA, Ryan DA, Warriar SK, Coupland SE, Glasson WJ. Conjunctival Lymphoma. *Eye (Lond).* 2023 Apr;37(5):837-48.