



Nörofibromatozis tip 1 yeni tanı kriterlerine sahip çocukluk çağındaki hastaların klinik ve moleküler özellikleri

Clinical and molecular characteristics of pediatric patients with neurofibromatosis type 1 new diagnostic criteria

Burcu Yeter¹  Yasemin Kendir Demirkol² 

¹ Kayseri Şehir Hastanesi, Çocuk Genetik Bilim Dalı, Kayseri, Türkiye

² Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Genetik Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ÖZ

Amaç: Nörofibromatozis tip 1 *cafe-au-lait* makülleri, koltuk altı ve inguinal bölgelerde çillenme, Lisch nodülleri ve kutanöz veya pleksiform nörofibromlar ile karakterize sık görülen otozomal dominant kalıtmı, nörokutanöz genetik bir hastalıktır. Son yıllarda Nörofibromatozis tip 1 yeni tanı kriterleri geliştirilmiş olup çalışmamızda bu güncellenen tanı kriterleri ile çocukluk çağındaki hastaların klinik ve moleküler özelliklerinin geriye dönük olarak değerlendirilmesi ve fenotip-genotip korelasyonu yapılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Nörofibromatozis tip 1 ön tanısı ile çocuk genetik polikliniğine başvuran ve *NF1* gen dizi analizinde patojenik varyant saptanan pediatrik yaş grubundaki toplam 21 hastanın klinik bulguları ve moleküler sonuçları retrospektif olarak incelenmiştir.

Bulgular: Hastaların *NF1* gen dizi analizleri sonucunda 9 nonsense, 6 frameshift, 5 splice bölgesi varyantı ve 1 de tüm gen delesyonu tespit edilmiştir. Bunlardan 3'ü ise daha önce bildirilmemiş yeni varyantlardır. Hastaların hepsinde *cafe-au-lait* makülleri mevcut olup yaklaşık yarısında da koltuk altı ya da kasık bölgesinde çillenme vardı. Üç olguda cilt nörofibromu, 1 olguda ise Lisch nodülü gözlemlendi. Eski ve yeni tanı kriterleri karşılaştırıldığında 16 hasta eski tanı kriterlerini karşılarken, yeni tanı kriterlerine göre ise hastaların tamamı tanı almıştır.

Sonuç: Yeni tanı kriterleri hastaların tanı alma oranını önemli derecede yükseltmiştir. Çalışmamızdaki hastaların tamamı yeni tanı kriterlerini karşılamıştır. Bu durum küçük yaşlarda tanı kriterlerini karşılamayan hastalarda *NF1* moleküler analizinin önemini göstermektedir. Ayrıca bu çalışmayla daha önce tanımlanmamış üç yeni varyantla birlikte *NF1* mutasyon spektrumunu genişlettik.

Anahtar Sözcükler: *Cafe-au-lait* makül, *NF1*, nörofibromatozis tip 1, yeni nesil dizileme.

ABSTRACT

Aim: Neurofibromatosis type 1 is a common autosomal dominant inherited neurocutaneous genetic disease characterized by cafe-au-lait macules, axillary and inguinal freckling, Lisch nodules, and cutaneous or plexiform neurofibromas. New diagnostic criteria for Neurofibromatosis type 1 have been developed in recent years. Our study aims to retrospectively evaluate childhood patients' clinical and molecular characteristics and make a phenotype-genotype correlation with these updated diagnostic criteria.

Materials and Methods: The clinical and molecular findings of 21 patients in the pediatric age group who were admitted to the pediatric genetics outpatient clinic with a preliminary diagnosis of neurofibromatosis type 1 and who were also found to have a pathogenic variant in the *NF1* gene sequence analysis were retrospectively analyzed.

Sorumlu yazar: Yasemin Kendir Demirkol
Ümraniye Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Genetik
Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye
E-posta: dryasminkendir@yahoo.com
Başvuru tarihi: 15.11.2022 Kabul tarihi: 25.08.2023

Results: As a result of the *NF1* gene sequence analysis of the patients, 9 nonsense, 6 frameshift, 5 splice site variants, and 1 whole gene deletion were detected. Three of these are novel variants that have not been reported before. All the patients had *cafe-au-lait* macules, and about half of them had freckles in the armpit or groin area. In addition, skin neurofibroma was observed in three cases, and Lisch nodule was observed in one case. When the old and new diagnostic criteria were compared, 16 of the patients met the old diagnostic criteria, while all the patients were diagnosed according to the new diagnostic criteria.

Conclusion: The new diagnostic criteria have significantly increased the diagnosis rate of patients. All the patients in our study met the new diagnostic criteria. This shows the importance of *NF1* molecular analysis in patients who do not meet the diagnostic criteria at an early age. We also expanded the *NF1* mutation spectrum with this study, with three new variants not previously identified.

Keywords: *Cafe-au-lait* spot, neurofibromatosis type 1, *NF1*, next-generation sequencing.

GİRİŞ

Nörofibromatozis tip 1 (*NF1*; OMIM #162200) von Recklinghausen hastalığı olarak da bilinen otozomal dominant kalıtmı, insidansı yaklaşık 1:3000 olan, etnik köken ve ırk ayrımı yapmayan, dünya genelinde görece sık görülen nörokutanöz bir genetik hastalıktır (1, 2). Nörofibromatozis tip 1 multisistemik tutulum göstermekle birlikte bazı bulgular doğumda görülürken bulguların büyük çoğunluğu ise yaşla birlikte ortaya çıkar. Hastalığın temel klinik özellikleri *cafe-au-lait* makülleri, koltuk altı ve inguinal bölgelerde çillenme, kutanöz veya pleksiform nörofibromlar, optik glioma, Lisch nodülleri, sfenoid kanat displazisi ve tibial psödoartrozdur. Nadiren boy kısalığı, göreceli makrosefali, skolyoz, kardiyovasküler anomaliler, öğrenme güçlüğü, dikkat eksikliği ve hiperaktivite de görülmektedir (3, 4). Ayrıca bu hastalarda periferik sinir kılıfı tümörü, santral sinir sistemi tümörleri, rabdomyosarkom, feokromasitoma ve meme kanseri gibi kanserlere yatkınlık da görülebilmektedir (5, 6). Nörofibromatozis tip 1 tam penetrans göstermesine rağmen klinik bulgular aynı aile içinde dahi oldukça farklılık göstermektedir (değişken ekspresivite) (7). Nörofibromatozis tip 1 hastalarının yaklaşık yarısında, *de novo* mutasyon (ailenin bir üyesinde ilk kez görülen mutasyon) nedeniyle hastalık ortaya çıkar. (8). On yedinci kromozomun uzun kolunun 11.2 bandında yer alan, bir tümör supresör gen olan *NF1* geninin fonksiyon kaybettiren germline heterozigot patojenik varyantları hastalığa yol açar (9). *NF1* geni yaklaşık 350 kb büyüklüğünde, yaygın transkriptine (NM_001042492.3) göre 58 ekzonlu bir gen olup ras-GTPaz-aktivatör protein olarak fonksiyon gösteren nörofibromini kodlar. Altı farklı fonksiyonel domaine sahip olan nörofibromin RAS'a (rat sarkom protein) bağlı GTP'nin hidrolizini hızlandırarak RAS/MAPK (mitojen

aktif protein kinaz) yolu aktivitesini negatif olarak düzenler ve tümör supresör olarak fonksiyon gösterir (10, 11). Nörofibrominin haployetmezliğinde RAS hiperaktivasyonu ile hücresel proliferasyonda artış olur, bu nedenle hem benign hem de malign tümör görülme riski artar (12). Nörofibromin çoğu dokuda düşük miktarda üretilirken, santral sinir sisteminde ise en yüksek seviyede bulunur (13). National Institutes of Health (NIH) tarafından 1988 yılında *NF1* için tanı kriterleri tanımlanmıştır (14). Tablo-1'de gösterilen bu 7 kriterden 2 veya daha fazlasını karşılayan bir bireye *NF1* tanısı konulur. Bu tanı kriterleri 1988'den beri tüm dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, aile öyküsü olmayan ve izole *cafe-au-lait* makülleri ile seyreden küçük yaş grubu hastalarda, pek çok klinik bulgunun da sonraki dönemde ortaya çıkmaya başladığı düşünüldüğünde erken dönemde tanı koymak zordur. Bu durum hastaların tanısında gecikmelerin yanı sıra, risk altındaki aile bireylerinin tespiti ve önlenabilir komplikasyonlar açısından da gecikmelere neden olmaktadır. Bununla birlikte *cafe-au-lait* makülleri ile seyreden Legius sendromu gibi benzer diğer genetik hastalıkların varlığı da tanı aşamasındaki güçlükleri artırmaktadır. Bu ve bunun gibi sebepler neticesinde 2021 yılında uluslararası fikir birliği önerisi ile *NF1* tanı kriterleri yeniden düzenlenip yayınlanmıştır (Tablo-1) (15). Bu yeni tanı kriterlerine *NF1* gen analizi eklenmiş, çocukluk dönemi hastaların da erken teşhis edilebilmesi sağlanmıştır.

Bu çalışmada çocuk genetik polikliniğine başvuran 21 *NF1* hastasının yeni *NF1* tanı kriterleri esas alınarak klinik özellikleri ve moleküler sonuçlarının retrospektif olarak değerlendirilmesi ve fenotip-genotip korelasyonu yapılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çocuk genetik polikliniğine başvuran klinik olarak NF1 tanısı düşünülen ve moleküler olarak *NF1* varyantı pozitif olan pediatrik yaş grubundaki toplam 21 hastanın verileri geriye dönük incelenerek çalışmaya dahil edilmiştir.

Periferik kan lökositlerinden EZ1 Advanced XL (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany) cihazında EZ1 DNA Blood 200 µl kitini (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany) kullanarak tam kandan DNA izolasyonu yapıldı. QIAGEN QIAseq Targeted DNA (NGS-NF1- CDHS-14640Z-199) (QIAGEN GmbH, Hilden Germany) kiti kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu gerçekleştirildi ve Illumina Miseq (Illumina Inc., San Diego, CA, USA) cihazında dizileme işlemi gerçekleştirildi. Elde edilen ham veriler QIAGEN QCI Analyze Universal 1.6.0 (QIAGEN GmbH, Hilden Germany) platformuyla işlendi ve VCF dosyaları oluşturuldu. Varyant değerlendirmeleri QIAGEN Clinical Insight QCI (QIAGEN GmbH, Hilden Germany) yazılımı ile yapıldı.

İlk olarak gnomAD ve lokal veri tabanında minor allel frekansı %1'den fazla olan varyantlar dışlandı. Sonrasında nonsense (anlamsız), frameshift (çerçeve kayması) ve standart splice bölge (kırılma bölgesi) (+1, +2, -1, -2) varyantlar gibi protein üzerine etkisi daha belirgin olan varyantlar değerlendirildi. Aday varyantlar Clinvar, (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar>), LOVD (<https://www.lovd.nl>), HGMD (<http://www.hgmd.cf.ac.uk>) veri tabanlarında ve yayınlarda kontrol edildi. Ayrıca varyantlar mevcut bilgisayar tahmin algoritmaları (DANN, DEOGEN2, EIGEN, FATHMM-MKL, LIST-S2, M-CAP, MVP, MutationTaster, Polyphen-2, PrimateAI ve SIFT) ile analiz edildi. Elde edilen varyantlar hakkındaki nihai sınıflama ACMG'nin (American College of Medical Genetics and Genomics) sekans varyantlarını değerlendirme kılavuzuna göre yapıldı (16).

Çalışma için Üsküdar Üniversitesi tıbbi araştırmalar etik kurulundan onay alınmıştır (Karar numarası: 61351342- Ekim 2022-10).

BULGULAR

NF1 patojenik varyantı saptanan toplam 21 olgunun kadın erkek oranı 8:13 idi. Tanı anındaki ortalama yaşları 8.5 idi. Toplam 10 olgunun aile öyküsü pozitifti. Hastaların hepsinde *cafe-au-lait* makülleri mevcuttu. On olguda koltuk altı ya da kasık bölgesinde çillenme, üç olguda cilt nörofibromu ve bir olguda ise Lisch nodülü gözlemlendi. Tanı anında çekilen beyin manyetik rezonans görüntüleme (MRG) altı hastada T2-

ağırlıklı sekanslarda hiperintens lezyonlar, iki hastada ise düşük grade glioma ile uyumlu bulgular tespit edildi. Hastaların hiçbirinde öğrenme güçlüğü ya da entelektüel gerilik yoktu. İki olguda skolyoz, dört olguda ise boy kısalığı mevcuttu. Hastaların hepsine ekokardiyografik değerlendirme yapıldı ve sadece bir hastada hiperekojen odak-fibroma ile uyumlu patolojik bulgu tespit edildi. Batın ultrasonografisinde ise iki hastada splenomegali, bir hastada ise hepatomegali görüldü ve rastlantısal bulgular olarak yorumlandı. Olgu 2'de NF1'in nadir bir cilt lezyonu olan juvenil ksantogranülom mevcuttu (Şekil-1). Olgu 10'da sol ulna metafizinde histopatolojik olarak gösterilen fibröz displazi saptandı. Olgu 21'de ise pektus ekskavatum ve sol ön kolda eğrilik gözlemlendi (Şekil-2).



Şekil-1. Sırtta oklarla gösterilen üç adet juvenil ksantogranülom



Şekil-2. Sol ön kolda eğrilik

NF1 tüm gen dizi analizi yapılan hastaların tamamında farklı bir varyant saptanmıştır. Bu varyantların dokuz tanesi nonsense, altı tanesi frameshift, beş tanesi splice bölge ve bir tanesi de tüm gen delesyonu şeklindedir. Saptanan varyantlardan üç tanesi daha önce bildirilmemişti.

NF1 geninde c.288+1G>A varyantı olan olgu 9'da Griselli sendromu bulguları da eşlik ettiği için yapılan RAB27A gen dizi analizinde homozigot c.514_518delCAAGC (p.Q172Nfs*2) varyantı tespit edilmiştir. Tablo-2'de olguların klinik ve moleküler özellikleri gösterilmektedir.

Tablo-1. Legius ve arkadaşları tarafından revize edilen yeni NF1 tanı kriterleri ile eski NIH tanı kriterlerinin karşılaştırılması

2021 yılında Legius ve arkadaşlarına göre yeniden düzenlenmiş NF1 tanı kriterleri ¹	1988 yılında NIH (National Institutes of Health)' a göre düzenlenmiş eski NF1 tanı kriterleri ²
<p>(A) Anne ya da babası NF1 tanısı almamış hastalarda aşağıdaki bulgulardan iki ya da daha fazlası varlığında;</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Puberte öncesi 5 mm'den büyük, puberte sonrası da 15 mm'den büyük olmak üzere 6 ya da daha fazla sayıda cafe-au-lait makülleri³ ▪ Koltuk altı ya da kasıl bölgesinde çillenme³ ▪ İki veya daha fazla sayıda nörofibrom ya da bir adet pleksiform nörofibrom ▪ Optik yol gliomu ▪ İki veya daha fazla Lisch nodülü veya <i>optik koherens tomografisi yöntemi ile tespit edilmiş iki ya da fazla sayıda parlak, yamalı nodüller şeklinde görüntülenen koroidal anomali</i> ▪ Sfenoid kanat displazisi⁴, tibianın anterolateral eğilmesi ya da uzun kemiklerin psödoartrozu gibi ayırt edici kemik lezyonları ▪ <i>Normal dokularda örneğin beyaz kan hücrelerinde allel frekansı %50 olan heterozigot patojenik NF1 gen varyantı tespit edilmesi</i> <p>(B) Anne ya da babası⁵ yukarıdaki NF1 tanı kriterlerini taşımak suretiyle NF1 tanısı olan hastalarda ise bir ya da daha fazla kriter varlığı yeterlidir.</p>	<p>Aşağıdaki bulgulardan iki ya da daha fazlası varlığında;</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Puberte öncesi 5 mm'den büyük, puberte sonrası da 15 mm'den büyük olmak üzere 6 ya da daha fazla sayıda cafe-au-lait lekeleri ▪ Koltuk altı ya da kasıl bölgesinde çillenme ▪ İki veya daha fazla sayıda nörofibrom ya da bir adet pleksiform nörofibrom ▪ Optik gliom ▪ İki veya daha fazla Lisch nodülü ▪ Sfenoid kanat displazisi, uzun kemiklerin korteksinde incelleme ya da psödoartrozu gibi ayırt edici kemik lezyonları ▪ Birinci derece akrabalarda (ebeveyn, kardeş ya da evlat) yukarıdaki kriterleri karşılayan NF1 tanısı

¹Legius et al. Revised diagnostic criteria for neurofibromatosis type 1 and Legius syndrome: an international consensus recommendation. Genet Med. 2021;23(8):1506-1513.

²Neurofibromatosis. Conference statement. National Institutes of Health Consensus Development Conference. Arch Neurol. 1988;45(5):575-8.

³Yalnız cafe-au-lait makülleri ve çillenme varlığında teşhis büyük olasılıkla NF1'dir ancak, istisnai olarak Legius sendromu ya da başka bir sendrom olabilir. İki pigmenter bulgudan en az biri (café-au-lait makülleri veya çiller) iki taraflı olmalıdır.

⁴Aynı taraflı orbital pleksiform nörofibrom varlığında sfenoid kanat displazisi ayrı bir kriter olarak kabul edilmez.

⁵Birinci derece akrabalarda (anne-baba, kardeş, evlat) NF1 tanısı yerine sadece ebeveynlerden birinin NF1 tanısının olması şeklinde değiştirilmiştir.

Tablo-2. Olguların klinik ve moleküler özellikleri.

Yaş	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Cinsiyet	16 y	2 y	10 aylık	6 aylık	7 y	9 y	3 y	13 y	4 y	4 y
Cafe-au-lait	K	E	K	E	E	K	K	E	K	E
Koltukaltı/kasık çilleri	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nörofibromlar	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+
Lisch Nodülü	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Beyin tutulumu	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+
Boy kısalığı	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Öğrenme güçlüğü/ Zeka geriliği	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alle hikayesi	+	-	-	-	+	+	-	+	-	+
NF1 varyantı	c.5406_5407insT p.I1803Lis*61	c.574C>T p.R192*	c.5205+1G>T	c.6791dupA p.Y2264*	c.6841C>T p.Q2281*	c.1924C>T p.Q642*	c.6167_6168delAT p.I2057Cis*17	c.999delC p.Y333*	c.288+1G>A	c.6829_6835dup p.Lys2279THis*9
Varyant tipi	Yeni	Anlamsız	Kırpılma bölgesi	Anlamsız	Anlamsız	Anlamsız	Çerçeve kayması	Anlamsız	Kırpılma bölgesi	Çerçeve kayması
Varyant durumu	Yeni	Tanımlı	Tanımlı	Tanımlı	Tanımlı	Tanımlı	Yeni	Tanımlı	Tanımlı	Yeni
ilave bulgular/Hastalık	Skolyoz	Juvenil ksantogramulom					Araknoid kist		Griselli Sendromu	Fibroz displazi

Tablo-2'nin Devamı. Olguların klinik ve moleküler özellikleri.

Yaş	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Cinsiyet	10 y	10 y	15 y	7 y	5 y	14 y	17 y	10 y	16 y	4 y	12 y
Cafe-au-lait	E	E	K	K	E	K	E	E	E	E	E
Koltukaltı/kasık çilleri	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nörofibromlar	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+
Lisch Nodülü/ Koroidal anomaliler	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Beyin tutulumu	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+
Boy kısalığı	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-
Öğrenme güçlüğü/ Zeka geriliği	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alle hikayesi	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+
NF1 varyantı	c.2991-3T>G Kırpılma bölgesi	c.7285C>T p.R2429*	c.2034delinsCA p.Ile679Asnfs*21	c.4537C>T p.Arg1513*	c.7486C>T p.Arg2496*	Tüm gen delesyonu Büyük delesyon	c.3314+1G>A Kırpılma bölgesi	c.6641+1G>T Kırpılma bölgesi	c.567delA p.Lys189Asnfs*2	c.2027delC p.P678Rfs*10	c.808C>T p.Q270*
Varyant tipi	Anlamsız	Anlamsız	Çerçeve kayması	Anlamsız	Anlamsız	Tanımlı	Tanımlı	Tanımlı	Çerçeve kayması	Çerçeve kayması	Anlamsız
Varyant durumu	Tanımlı	Tanımlı	Tanımlı	Tanımlı	Tanımlı	Tanımlı	Tanımlı	Tanımlı	Tanımlı	Tanımlı	Tanımlı
ilave bulgular	Splenomegali				Hepatomegali		Splenomegali		Skolyoz		ekskavatum , sağ atriyumda hiperekolen odak, sol ön kolda eğrilik

TARTIŞMA

Nörofibromatozis tip 1 vücutta birçok sistemi etkileyen, önemli derecede morbidite ve mortalite ile ilişkili, sık görülen kompleks genetik bir hastalıktır. Basit bir Mendelyen kalıtım sergilediği halde değişken ekspresivitesi nedeniyle aynı aile içerisinde yani, aynı mutasyona sahip bireylerde dahi hastalık oldukça farklı seyredebilmektedir. Bu sebeple klinik bulguların ne zaman ortaya çıkacağını öngörebilmek de şu an için mümkün değildir. Bu durum modifiye edici genler ve çevresel faktörler gibi çeşitli etkenlerin de hastalığın klinik seyrine tesir edebileceğini düşündürmektedir. *Cafe-au-lait* makülleri, tibial psödoartroz, optik glioma ve eksternal pleksiform nörofibrom genellikle hayatın ilk yıllarında ortaya çıkarken, koltuk altı ve/veya kasık çillenmesi ve skolyoz ise daha ileri yaşlarda gözlenmektedir (17). Güneş ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada cilt nörofibromları ve Lisch nodüllerinin 12 yaş üstünde daha yaygın görüldüğü tespit edilmiştir (18).

NF1 geni en yüksek spontan mutasyon oranına (1/10.000) sahip genlerden biridir (9). Bu yüzden hastaların neredeyse yarısında *de novo* mutasyon nedeniyle hastalık ortaya çıkar. *De novo* mutasyonların yaklaşık %90'ı babadan gelen kromozom kaynaklıdır (19). *NF1*'i diğer birçok genden ayıran bir başka özellik ise intronlarından biri içerisinde üç farklı gen (*EVI2A*, *EVI2B*, *OMG*) barındırmasıdır. Ayrıca *NF1* ile yüksek benzerlik gösteren psödogen-benzeri diziler birçok farklı kromozomda gözlenmiştir. Bu dizilerin varlığı, genin oldukça büyük olması ve uzun intronik DNA içermesi *NF1*'in moleküler analizini zorlaştırmaktadır. Bu zamana kadar LOVD'e göre (Leiden Open Variation Database; <https://databases.lovd.nl/>) (Ocak,2023) 2000'den fazla patojenik ya da muhtemel patojenik *NF1* varyantı tespit edilmiştir. Bu varyantlar tüm genomda rastgele dağılım gösterdiğinden genin *hot spot* bölgesi tanımlanamamıştır. En sık görülen mutasyon tipleri (LOVD'e göre) sırasıyla frameshift, nonsense ve splice bölge mutasyonlarıdır. Çalışmamızdaki hasta serisinde de benzer bir sıralama (9 nonsense, 6 frameshift, 5 splice bölgesi varyantı ve 1 de tüm gen delesyonu) gözlenmiştir.

Cafe-au-lait makülleri en sık görülen semptom olup doğumda ya da ilk birkaç yılda ortaya çıkarlar. Bu maküller genellikle düzgün sınırlıdır ve homojen bir pigmentasyona sahiptirler. Literatürle uyumlu olarak *cafe-au-lait* makülleri hastalarımızın tamamında (%100) mevcuttu ve polikliniğe ilk başvuru şikayetini oluşturuyorlardı. İkinci en sık görülen bulgu ise koltuk altı ve/veya

kasık bölgelerindeki çillenmedir ancak, genellikle 2-3 yaşından sonra gözlenir (20,21). Dolayısıyla aile öyküsü olmayan ve izole *cafe-au-lait* maküllerinin görüldüğü küçük yaşta çocuklarda *NF1* moleküler analizi zorunlu hale gelmektedir. National Institutes of Health tanı kriterlerinin dışında kalan 5 olgumuz Legius ve arkadaşları tarafından oluşturulan yeni tanı kriterleri ile değerlendirildiklerinde erken dönemde tanı almaları sağlanmıştır.

Cilt nörofibromları da *NF1*'in sık rastlanan bulgularından olup çoğunlukla 10'lu yaşlardan itibaren ortaya çıkarlar ve yetişkin *NF1* hastaların birçoğunda gözlenirler. Cilt nörofibromları tamamen benign lezyonlardır ve malign dönüşümleri beklenmemektedir. Çalışmamızda pediatrik yaş grubundaki toplam 21 hastadan sadece 3'ünde nörofibrom görüldü, literatürle uyumlu olarak hepsi 10 yaşın üzerindedir.

İzole Lisch nodülleri genel popülasyonda oldukça nadir rastlanır. Diğer birçok *NF1* bulgusu gibi bunun da yaşla birlikte görülme olasılığı artar. Üç yaşından küçük *NF1* hastalarının sadece %5'inde Lisch nodülü vardır (22). Yapılan başka bir çalışmada ise *NF1*'li çocukların %52'sinde Lisch nodülleri bildirilmiştir; bu hastalarda da Lisch nodüllerinin ortalama görülme yaşı, 8.8 ($\pm 3,6$) olarak hesaplanmıştır (20). Çalışmamızda ise 12 yaşındaki bir hastamızda Lisch nodülü saptanmıştır.

Taramalı lazer oftalmoskop ve oküler koherens tomografi ile yakın kızılötesi yansıma yoluyla fundus muayenesi, *NF1* hastalarında koroid anomalilerinin sık olduğunu göstermiştir (23, 24). Koroidal anomaliler de yaşla birlikte ortaya çıkar ve yetişkin hastaların tamamında bu bulguya rastlanır (25). Yapılan bir çalışmada 16 yaş altındaki *NF1* hastalarının %78.9'unda koroidal anomali saptanmıştır (26). Daha da önemlisi 2 yaşından itibaren bu anomalilerin tespit edilebildiği gösterilmiştir (24). Ancak koroidal anomalilerin asemptomatik olması ve standart oftalmoskopik muayene ile tespit edilememesi gözden kaçabilen bir bulgu olarak karşımıza çıkar. Koroidal anomaliler erken yaşlardan itibaren ve neredeyse tüm hastalarda görülmesi nedeniyle Legius ve arkadaşları tarafından oluşturulan yeni tanı kriterlerine eklenmiştir (15). Bizim çalışmamızda ise hastalarımız koroidal anomaliler açısından taranmamıştır. Ancak, yeni tanı kriterlerine koroidal anomaliler eklendiği için *NF1* düşünülen hastaların bu açıdan da takip edilmesi tanı açısından kolaylık sağlayacaktır.

Hastalığın bir diğer bulgusu beyin MRG'de T2-ağırlıklı sekanslarda saptanan hiperintens lezyonlardır. Bu lezyonlar genellikle bazal

ganglionlarda, beyin sapında ve serebellumda bulunurlar ve 2-10 yaşlarında görünür hale gelip sıklıkla ikinci dekatta da gerileme eğilimi gösterirler. Kontrast tutulumu ya da kitle etkisi gösteren lezyonlarda ise düşük grade gliomalardan şüphelenilmelidir. Bu gliomalar beyin herhangi bir yerinde gözlenmekle birlikte sıklıkla beyin sapında yerleşiktirler (27). Aynı zamanda beyin sapı gliomaları sıklıkla benignir ve çoğu zaman klinik müdahale veya tedavi gerektirmez (28). Bizim çalışmamızda 6 hastada çoğunlukla bazal ganglionlar ve serebellum seviyesinde olmak üzere hiperintens lezyonlar görüldü ve hastaların hiçbirinde nörolojik bir bulgu saptanmadı. İki hastada da düşük gradeli glioma görülmüş olup beyin cerrahisi tarafından takibe alınmıştır.

Sfenoid kanat displazisi NF1'in bir diğer karakteristik bulgusu olup, yapılan bir çalışmada tüm NF1 hastalarının %3-11'inde gözlemlendiği gösterilmiştir (29). Aynı zamanda bu antite orbital ya da periorbital pleksiform nörofibromlarla birlikte ortaya çıkabilmektedir (30). Bu açıdan yeni tanı kriterlerine göre aynı taraflı orbital pleksiform nörofibrom varlığında sfenoid kanat displazisi ayrı bir kriter olarak kabul edilmemektedir (15). Çalışmamıza dahil edilen olguların ise hiçbirinde sfenoid kanat displazisine rastlanmamıştır.

Juvenil ksantogranülom (JKG) Langerhans hücreli olmayan histiyositozlar grubunda yer alan, sıklıkla hayatın ilk yıllarında ortaya çıkan yaygın görülen bir dermatozdur (31). Granülomatöz histiositik reaksiyonun tetiklediği infeksiyon ya da fiziksel stimülasyon sonucu ortaya çıktığı düşünülmekle birlikte sebebi tam olarak aydınlatılmamıştır. Tek ya da çoklu, sarı-turuncu-kahverengi sert papüller veya nodüllerden oluşurlar ve en sık yüz, boyun ve üst gövdede görülürler (32). Juvenil ksantogranülom'lar NF1 hastalarının yaklaşık %5-10'unda, iki yaşından küçük NF1 hastalarının ise %30'unda rapor edilmiştir (33, 34). Aynı zamanda JKG'ler juvenil myelomonositik lösemi (JMML) ile de ilişkilendirilmiştir. Nörofibromatozis tip 1 hastalarında JMML insidansı 1:2000 ile 1:5000 olduğu bilinmektedir. Ancak, JKG ve NF1 birlikteliğinde JMML görülme riski, tek başına NF1'e göre 20-32 kat artmaktadır (35). Bizim çalışmamızda 2 yaşındaki bir olguda yüzde, saçlı deride ve sırtta çok sayıda JKG vardı (Resim-1). Hastamızda saptanan c.574C>T (p.Arg192*) patojenik varyantı daha önce literatürde bildirilmiş ancak, JKG gösterilmemiştir (36, 37).

Bir olgumuzda sol ulna proksimalinde fibröz displazi ile uyumlu bir lezyon mevcuttu. Bu hastada, fibröz displazilerin eşlik ettiği bir sendrom olan Mc-Cune Albright Sendromu açısından değerlendirilmek üzere dokudan yapılan biyopsi örneğinden çalışılan somatik GNAS geni dizi analizinde patojenik varyant saptanmadı. Bu hastanın annesi de NF1 açısından pozitif idi ancak, annesinde fibröz displazi tespit edilmedi. Literatürde NF1 ve fibröz displazi birlikteliği gösterilmiş ancak, yapılan çalışmada moleküler analize yer verilmemiştir (38). NF1 frameshift mutasyonu olan bu hastada bulunan fibröz displazi insidental bir bulgu olarak düşünüldü.

Literatür tarandığında günümüze kadar az sayıda genotip-fenotip korelasyonu tanımlandığı görülmektedir. Tüm NF1 gen delesyonları zekâ geriliği, çok sayıda nörofibrom, malign periferik sinir kılıfı tümörleri ve kardiovasküler malformasyonlar ile ilişkilendirilmiştir (39). Çalışmamızdaki olgulardan sadece birinde tüm gen delesyonu olup *cafe-au-lait* makülleri, koltuk altı ve kasık çillenmesi dışında başka bir bulgusu yoktu. Bir çerçeve içi delesyon tipi olan c.2970_2972delAAT (p.Met992del) patojenik varyantı ise nörofibromların eşlik etmediği sadece *cafe-au-lait* makülleri ve koltuk altı ve/veya kasık bölgelerinde çillenme ile presente olan hafif bir fenotip ortaya çıkarmaktadır (40). Santral sinir sistemi tutulumu olmayan ve hafif fenotip ile ilişkilendirilen mutasyonlar arasında p.Arg1809 değişimi ve p.Arg1038Gly de bulunmaktadır (41). NF1 geni 844-848 kodonları arasındaki missense (yanlış anlamlı) varyantlar ise pleksiform nörofibromlar, semptomatik spinal nörofibromlar, optik glioma ve iskelet anomalileri ile karakterize daha ağır bir fenotip sergilemektedir (42). Çalışmamıza dahil edilen olgu serisinde ise bu varyantlara rastlanmamıştır. Missense patojenik varyantlarda ise daha az Lisch nodüllerinin görüldüğü gösterilmiştir (43).

SONUÇ

Bu çalışmada pediatrik yaş grubundaki toplam 21 hasta, NF1 yeni tanı kriterleri ile değerlendirilerek tanı aldı. Eski tanı kriterlerine göre 21 hastanın 16'sına tanı konulabilirken moleküler tanının da yeni tanı kriterlerine eklenmesiyle çalışmamızdaki hastaların tamamı NF1 tanısı almıştır. Literatür incelendiğinde şimdiye kadar yeni tanı kriterleri ile yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır.

Son yıllarda geliştirilen yeni nesil dizileme (Next-generation sequencing) teknolojileri sayesinde moleküler tanı kolaylaşmıştır. Moleküler testlerin

bir diğ er önemli faydası ise gelecekte planlanan gebeliklere yönelik olarak ebeveynler için uygun bir genetik danışmanlık verilmesine ve preimplantasyon genetik tanıya imkân sağlamasıdır.

Aynı zamanda bu çalışmamız, bulunan üç yeni frameshift varyant (p.I1803Lfs*61, p.I2057Cfs*17 ve p.Lys2279Thrfs*9) ile klinik bulgular ve

moleküler spektrum açısından literatüre katkıda bulunmaktadır. Sonuç olarak, çocukluk döneminde eski tanı kriterlerini karşılamayan hastalarda, erken tanı ve takip sürecinin şekillenmesi açısından *NF1* moleküler analizinin önemini vurgulamak istedik.

Çıkar çatışması: Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Kaynaklar

1. Anderson JL, Gutmann DH. Neurofibromatosis type 1. *Handb Clin Neurol*. 2015;132:75-86.
2. Lammert M, Friedman JM, Kluwe L, Mautner VF. Prevalence of neurofibromatosis 1 in German children at elementary school enrollment. *Arch Dermatol*. 2005;141(1):71-4.
3. Ferner RE, Gutmann DH. Neurofibromatosis type 1 (NF1): diagnosis and management. *Handb Clin Neurol*. 2013;115:939-55.
4. 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;44(2):81-8.
5. Evans DGR, Kallionpaa RA, Clementi M, Trevisson E, Mautner VF, Howell SJ, et al. Breast cancer in neurofibromatosis 1: survival and risk of contralateral breast cancer in a five country cohort study. *Genet Med*. 2020;22(2):398-406.
6. Uusitalo E, Rantanen M, Kallionpaa RA, Poyhonen M, Leppavirta J, Ylä-Outinen H, et al. Distinctive Cancer Associations in Patients With Neurofibromatosis Type 1. *J Clin Oncol*. 2016;34(17):1978-86.
7. 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;278(1):51-7.
8. Valero MC, Pascual-Castroviejo I, Velasco E, Moreno F, Hernandez-Chico C. Identification of de novo deletions at the NF1 gene: no preferential paternal origin and phenotypic analysis of patients. *Hum Genet*. 1997;99(6):720-6.
9. Friedman JM. Neurofibromatosis 1. In: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Gripp KW, et al., editors. *GeneReviews*((R)). Seattle (WA)1993.
10. Bergoug M, Doudeau M, Godin F, Mosrin C, Vallee B, Benedetti H. Neurofibromin Structure, Functions and Regulation. *Cells*. 2020;9(11).
11. Gutmann DH, Ferner RE, Listernick RH, Korf BR, Wolters PL, Johnson KJ. Neurofibromatosis type 1. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3:17004.
12. Koczkowska M, Callens T, Chen Y, Gomes A, Hicks AD, Sharp A, et al. Clinical spectrum of individuals with pathogenic NF1 missense variants affecting p.Met1149, p.Arg1276, and p.Lys1423: genotype-phenotype study in neurofibromatosis type 1. *Hum Mutat*. 2020;41(1):299-315.
13. Marchuk DA, Saulino AM, Tavakkol R, Swaroop M, Wallace MR, Andersen LB, et al. cDNA cloning of the type 1 neurofibromatosis gene: complete sequence of the NF1 gene product. *Genomics*. 1991;11(4):931-40.
14. Neurofibromatosis. Conference statement. National Institutes of Health Consensus Development Conference. *Arch Neurol*. 1988;45(5):575-8.
15. Legius E, Messiaen L, Wolkenstein P, Pancza P, Avery RA, Berman Y, et al. Revised diagnostic criteria for neurofibromatosis type 1 and Legius syndrome: an international consensus recommendation. *Genet Med*. 2021;23(8):1506-13.
16. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J et al (2015) Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 17:405–24
17. Barrea C, Vaessen S, Bulk S, Harvengt J, Misson JP. Phenotype-Genotype Correlation in Children with Neurofibromatosis Type 1. *Neuropediatrics*. 2018;49(3):180-4.
18. Gunes N, Yesil G, Geyik F, Kasap B, Celkan T, Kebudi R, et al. Neurofibromatosis type 1: Expanded variant spectrum with multiplex ligation-dependent probe amplification and genotype-phenotype correlation in 138 Turkish patients. *Ann Hum Genet*. 2021;85(5):155-65.
19. Ben-Salem S, Al-Shamsi AM, Ali BR, Al-Gazali L. The mutational spectrum of the NF1 gene in neurofibromatosis type I patients from UAE. *Childs Nerv Syst*. 2014;30(7):1183-9.
20. Cnossen MH, de Goede-Bolder A, van den Broek KM, Waasdorp CM, Oranje AP, Stroink H, et al. A prospective 10 year follow up study of patients with neurofibromatosis type 1. *Arch Dis Child*. 1998;78(5):408-12.

21. Nunley KS, Gao F, Albers AC, Bayliss SJ, Gutmann DH. Predictive value of cafe au lait macules at initial consultation in the diagnosis of neurofibromatosis type 1. *Arch Dermatol.* 2009;145(8):883-7.
22. Lubs ML, Bauer MS, Formas ME, Djokic B. Lisch nodules in neurofibromatosis type 1. *N Engl J Med.* 1991;324(18):1264-6.
23. Cassiman C, Casteels I, Jacob J, Plasschaert E, Brems H, Dubron K, et al. Choroidal abnormalities in cafe-au-lait syndromes: a new differential diagnostic tool? *Clin Genet.* 2017;91(4):529-35.
24. Vagge A, Camicione P, Capris C, Sburlati C, Panarello S, Calevo MG, et al. Choroidal abnormalities in neurofibromatosis type 1 detected by near-infrared reflectance imaging in paediatric population. *Acta Ophthalmol.* 2015;93(8):e667-71.
25. 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;119(2):369-75.
26. Goktas S, Sakarya Y, Ozcimen M, Alpfidan I, Uzun M, Sakarya R, et al. Frequency of choroidal abnormalities in pediatric patients with neurofibromatosis type 1. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus.* 2014;51(4):204-8.
27. Gutmann DH, Rasmussen SA, Wolkenstein P, MacCollin MM, Guha A, Inskip PD, et al. Gliomas presenting after age 10 in individuals with neurofibromatosis type 1 (NF1). *Neurology.* 2002;59(5):759-61.
28. Ullrich NJ, Raja AI, Irons MB, Kieran MW, Goumnerova L. Brainstem lesions in neurofibromatosis type 1. *Neurosurgery.* 2007;61(4):762-6; discussion 6-7.
29. Alwan S, Tredwell SJ, Friedman JM. Is osseous dysplasia a primary feature of neurofibromatosis 1 (NF1)? *Clin Genet.* 2005;67(5):378-90.
30. 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;124(1):123-32.
31. Oliveira TE, Tarle RG, Mesquita LAF. Dermoscopy in the diagnosis of juvenile xanthogranuloma. *An Bras Dermatol.* 2018;93(1):138-40.
32. Szczerkowska-Dobosz A, Kozicka D, Purzycka-Bohdan D, Biernat W, Stawczyk M, Nowicki R. Juvenile xanthogranuloma: a rare benign histiocytic disorder. *Postepy Dermatol Alergol.* 2014;31(3):197-200.
33. Cambiaghi S, Restano L, Caputo R. Juvenile xanthogranuloma associated with neurofibromatosis 1: 14 patients without evidence of hematologic malignancies. *Pediatr Dermatol.* 2004;21(2):97-101.
34. Ferrari F, Masurel A, Olivier-Faivre L, Vabres P. Juvenile xanthogranuloma and nevus anemicus in the diagnosis of neurofibromatosis type 1. *JAMA Dermatol.* 2014;150(1):42-6.
35. Zvulunov A, Barak Y, Metzker A. Juvenile xanthogranuloma, neurofibromatosis, and juvenile chronic myelogenous leukemia. World statistical analysis. *Arch Dermatol.* 1995;131(8):904-8.
36. Chen L, Xue F, Xu J, He J, Fu W, Zhang Z, et al. Five novel NF1 gene pathogenic variants in 10 different Chinese families with neurofibromatosis type 1. *Mol Genet Genomic Med.* 2019;7(9):e904.
37. Ece Solmaz A, Isik E, Atik T, Ozkinay F, Onay H. Mutation spectrum of the NF1 gene and genotype-phenotype correlations in Turkish patients: Seventeen novel pathogenic variants. *Clin Neurol Neurosurg.* 2021;208:106884.
38. Schotland HM, Eldridge R, Sommer SS, Malawar M. Neurofibromatosis 1 and osseous fibrous dysplasia in a family. *Am J Med Genet.* 1992;43(5):815-22.
39. Pasmant E, Sabbagh A, Spurlock G, Laurendeau I, Grillo E, Hamel MJ, et al. NF1 microdeletions in neurofibromatosis type 1: from genotype to phenotype. *Hum Mutat.* 2010;31(6):E1506-18.
40. Koczkowska M, Callens T, Gomes A, Sharp A, Chen Y, Hicks AD, et al. Expanding the clinical phenotype of individuals with a 3-bp in-frame deletion of the NF1 gene (c.2970_2972del): an update of genotype-phenotype correlation. *Genet Med.* 2019;21(4):867-76.
41. Wang W, Wei CJ, Cui XW, Li YH, Gu YH, Gu B, et al. Impacts of NF1 Gene Mutations and Genetic Modifiers in Neurofibromatosis Type 1. *Front Neurol.* 2021;12:704639.
42. Koczkowska M, Chen Y, Callens T, Gomes A, Sharp A, Johnson S, et al. Genotype-Phenotype Correlation in NF1: Evidence for a More Severe Phenotype Associated with Missense Mutations Affecting NF1 Codons 844-848. *Am J Hum Genet.* 2018;102(1):69-87.
43. Castle B, Baser ME, Huson SM, Cooper DN, Upadhyaya M. Evaluation of genotype-phenotype correlations in neurofibromatosis type 1. *J Med Genet.* 2003;40(10):e109.