

Aus der Kinderklinik des Universitätsklinikums Augsburg

**Der Weg zu einer personalisierten
Überwachungsstrategie für Kinder,
Jugendliche und junge Erwachsene mit
Neurofibromatose Typ 1**

Kumulative Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

Dr. med.

eingereicht an der

Medizinischen Fakultät der Universität Augsburg

von

Daniela Angelova-Toshkin

Augsburg, 22.06.2023



Dissertation eingereicht am: 22.06.2023

Erstgutachter (Hauptbetreuer): Prof. Dr. Dr. med. Michael Frühwald

Zweitgutachter: Prof. Dr. med. Bruno Märkl

Tag der mündlichen Prüfung: 16.04.2024

Eidesstattliche Versicherung und Erklärung

Hiermit versichere ich an Eides statt, dass die vorliegende Dissertation von mir selbständig und ohne unerlaubte Hilfe angefertigt wurde. Zudem wurden keine anderen als die angegebenen Quellen verwendet. Außerdem versichere ich, dass die Dissertation keiner anderen Prüfungskommission vorgelegt wurde und ich mich nicht anderweitig einer Doktorprüfung ohne Erfolg unterzogen habe.

Augsburg, 22.06.2023

Statutory declaration and statement

I declare that I have authored this thesis independently, that I have not used other than the declared sources/resources. Furthermore, I declare that I have not submitted a dissertation without success and not passed the oral exam. The present dissertation (neither the entire dissertation nor parts) has not been presented to another examination board.

Augsburg, 22.06.2023

„Das Erste, das der Mensch im Leben vorfindet, das Letzte, wonach er die Hand ausstreckt, das Kostbarste, was er im Leben besitzt, ist die Familie.“

Adolf Kolping

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS.....	5
1. EINLEITUNG.....	7
1.1. Definition und Epidemiologie.....	7
1.2. Das <i>NF1</i> -Gen	7
1.3. Das <i>NF1</i> -Protein – Neurofibromin	8
1.4. Klinische Diagnostikkriterien für eine <i>NF1</i>	9
1.5. Differentialdiagnosen einer <i>NF1</i>	11
1.6. Bekannte Genotyp – Phänotyp – Assoziationen	12
1.7. Nicht – neoplastische Manifestationen einer <i>NF1</i>	13
1.7.1. Café – au – lait Makulae.....	13
1.7.2. Skelettdeformitäten.....	14
1.7.3. Vaskulopathie	14
1.7.4. Makrozephalus.....	14
1.7.5. Focal areas of signal intensity	14
1.7.6. Beeinträchtigungen der neurologischen Funktionen im Rahmen einer <i>NF1</i>	15
1.7.7. <i>NF1</i> – Neuropathie.....	16
1.8. Neoplasien im Rahmen einer <i>NF1</i>	16
1.8.1. Neurofibrome	16
1.8.2. Low – grade Gliome	17
2. ABSTRACTS DER MANUSKRIPTE, DIE DIESER DISSERTATION ZU GRUNDE LIEGEN	18
3. DISKUSSION.....	20
3.1. Die Rolle der frühzeitigen molekulargenetischen Testung bei der Diagnosestellung	20
3.2. Das betroffene Geschwisterkind – die Differentialdiagnose eines CMMRD	21
3.3. Die Herausforderung der Mosaik- <i>NF1</i>	21
3.4. Vorgehen bei isolierten Pigmentbefunden	21
3.5. Genotyp – Phänotyp – Korrelationen	22
3.6. Mögliche weitere diagnostische Kriterien.....	22
3.7. Zusammentreffen zweier seltener Erkrankungen – das MMS im Rahmen einer <i>NF1</i>	23

3.8.	Motorische Schwierigkeiten im Rahmen einer NF1	23
3.9.	Neurokognition, ADHS, ASS und NF1 – die Notwendigkeit einer regelmäßigen NPT	23
3.10.	Die Epilepsie bei NF1 – strukturell oder auch idiopathisch?	25
3.11.	FASI als Einflussfaktor auf die Kognition	25
3.12.	Routine-MRT aufgrund der Tumordisposition sinnvoll?.....	26
3.13.	Limitationen der vorliegenden Arbeit.....	26
3.14.	Schlussfolgerungen	27
3.15.	Ausblick.....	27
4.	ZUSAMMENFASSUNG.....	29
4.1.	Deutsch	29
4.2.	Englisch	30
5.	LITERATURVERZEICHNIS.....	31
	APPENDIX.....	38
I.	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	38
II.	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	39
III.	TABELLENVERZEICHNIS	40
IV.	DANKSAGUNG	41
V.	EIGENE VERÖFFENTLICHUNGEN UND VORSTELLUNG DER ERGEBNISSE AUF MEDIZINISCHEN FACHTAGUNGEN UND KONGRESSEN	42

1. Einleitung

1.1. Definition und Epidemiologie

Die Neurofibromatose Typ 1 (NF1; auch Morbus Recklinghausen) ist eine autosomal-dominant vererbte Erkrankung, die multiple Organsysteme betrifft und ein breites Spektrum klinischer Manifestationen aufweist. Zusammen mit der Neurofibromatose Typ 2 und der Schwannomatose bildet die NF1 die Gruppe der Neurofibromatosen, unterscheidet sich aber sowohl klinisch als auch genetisch von diesen beiden Syndromen.

Die globale Prävalenz der NF1 beträgt 1:3.000 bis 1:6.000, wobei regionale Unterschiede auftreten. (1) Die unterschiedliche Prävalenz kann Folge einer unterschiedlichen Datenerhebung aber auch von populationsbezogenen Faktoren sein, die die Entstehung von *de novo* Mutationen beeinflussen. Ca. 50% der NF1-Erkrankungen entstehen aufgrund einer *de novo* Mutation. (2)

1.2. Das *NF1*-Gen

Die NF1 wird durch Keimbahnvarianten im *NF1*-Gen verursacht, das für das (Tumorsuppressor-) Protein Neurofibromin kodiert. Das *NF1*-Gen ist in Chromosom 17 (17q11.2) lokalisiert und besteht aus 57 Exons. (Abbildung 1) Es umfasst etwa 350 Kilo-Basenpaare genomischer DNA und kodiert eine mRNA von 11 bis 13 Kilo-Basenpaare. (3) Die drei aktiven Gene (OMGP, EVI2B und EVI2A) liegen innerhalb eines Introns des *NF1*-Gens, jedoch in entgegengesetzter Richtung. (4) Es sind über 3.000 Keimbahnvarianten beschrieben, die zu dem klinischen Bild einer NF1 führen. Bisher sind keine Regionen im *NF1*-Gen beschrieben, die mit einer höheren Wahrscheinlichkeit für Varianten (sog. Hotspot-Regionen) assoziiert sind. (2)

Mittels DNA-, mRNA- und FISH-Analyse zur Detektion kompletter *NF1*-Deletionen lassen sich > 95% der Varianten identifizieren. Außer der häufigeren „generalisierten“ Form der NF1 existiert noch eine „segmentale“ oder Mosaik-NF1, bei der die typischen NF1-Merkmale auf einen Körperbereich beschränkt sind. Diese Form der NF1 ist wahrscheinlich Folge einer somatischen Mutation im *NF1*-Gen während der fetalen Entwicklung. (5; 6) Zur Diagnose von Mosaik-Formen sind molekulargenetische Analysen des betroffenen Gewebes notwendig.

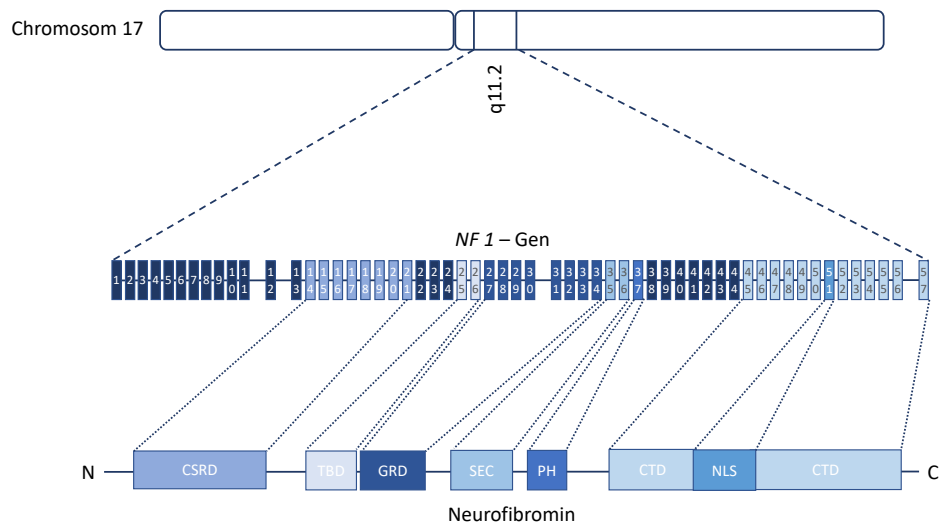


Abbildung 1: Chromosom 17, *NF1*-Gen und Neurofibromin (modifiziert nach Barrea et al.) (2)

CSRD: cysteine and serine rich domain; TBD: tubulin binding domain; GRD: domain responsible for interaction with RAS and GTP hydrolysis; SEC14-PH: bipartite lipid binding domain; CTD: carboxyl terminal domain; FBD: FAK protein binding domain (modifiziert nach (7))

1.3. Das NF1-Protein – Neurofibromin

Neurofibromin ist ein langes Protein (220-250 Kilodalton), das in unterschiedlichen Zellen exprimiert wird, u.a. in Neuronen, Gliazellen, Zellen des Immunsystems, Endothelzellen, Zellen des Nebennierenmarks und, abhängig vom Gewebe, verschiedene Funktionen hat. (8) Ein Teil des Proteins erfüllt die Funktion einer GTPase und katalysiert die Umwandlung des aktiven, an GTP gebundenen RAS-Protoonkogens in seine inaktive, an GDP gebundene, Form. (4) Auf diese Weise unterdrückt Neurofibromin physiologischerweise das RAS-unterstützte Zellwachstum. Das Fehlen von Neurofibromin, wie auch in NF1-assoziierten Tumoren gesehen, führt zu einer Erhöhung der RAS-Aktivität und zu einer gesteigerten Zellproliferation und zu einem erhöhten Zellüberleben. (9) Die Zellproliferation, u.a. in Neurogliazellen, wird weiter über die aktivierten MEK- und AKT-Signalwege (mTOR) gefördert. (10) Darüber hinaus wird die Adenylatcyclase durch das Neurofibromin u.a. in Neuronen hochreguliert und somit mehr cAMP intrazellulär zu Verfügung gestellt. (11) Das Fehlen von Neurofibromin hat entsprechend vielfältige Auswirkungen und kann neben der Entwicklung von Tumoren auch zur Entwicklung von Pigmentläsionen und Skelettanomalien führen.

1.4. Klinische Diagnostikkriterien für eine NF1

Die NF1 ist durch ein sehr breites klinisches Spektrum gekennzeichnet. Seit 1987 gelten die diagnostischen Kriterien des National Institutes of Health (NIH), die im Jahr 1997 überarbeitet wurden. (12) Diese umfassen die häufigsten klinischen Manifestationen einer NF1. Die Diagnose einer NF1 wird gestellt, wenn ab einem bestimmten Alter mindestens zwei der klinischen Kriterien erfüllt werden.

Tabelle 1: Diagnostische Kriterien für NF1, National Institutes of Health (≥ 2 der folgenden Merkmale müssen erfüllt sein)

Merkmals	Mindestanzahl	Weiteres
Café-au-lait Makulae (CALM)	6	Größter Durchmesser > 5 mm vor der Pubertät > 15 mm nach der Pubertät
Neurofibrome	2*	* ≥ 1 , wenn plexiform
Axilläres oder inguinales Freckling	nicht zutreffend	
Lisch-Knötchen (LN)	2	Iris-Hamartome
Optikusgliom (OPG)	1	
Typische knöcherne Veränderungen	1	z.B. Keilbeinflügeldysplasie, Ausdünnung der Kortikalis langer Röhrenknochen mit oder ohne Pseudarthrose
Verwandter 1. Grades mit NF1	1	

Die NF1 ist die erste Erkrankung, die als Folge von Veränderungen im RAS-Signalweg identifiziert wurde. Nachfolgend wurden pathogene Varianten in weiteren Genen des Signalwegs als ursächlich für andere Erkrankungen erkannt, woraufhin man diese Gruppe von Krankheitsbildern als RASopathien bezeichnete. Dazu gehören z.B. das Noonan-Syndrom, das Legius Syndrom (LS) und das LEOPARD Syndrom. (13) Der klinische Phänotyp einer NF1, anderer RASopathien, sowie auch des Konstitutionellen Mismatch Reparaturdefekts (constitutional mismatch repair deficiency; CMMRD) weisen viele Überlappungen auf. Die differentialdiagnostische Abgrenzung ist zur Einschätzung

des klinischen Verlaufs, der Prognose und ggf. Therapie wichtig und ermöglicht eine gezielte Beratung der betroffenen Familien. Abhängig von der zugrunde liegenden genetischen Veränderung unterscheiden sich sowohl die Behandlungsmodalitäten als auch die Vorsorgeempfehlung erheblich. (14; 15)

Anhand der NIH-Diagnostikkriterien ist eine Abgrenzung unter diesen sich klinisch überlappenden Krankheitsbildern nicht möglich. Daher wurden die Kriterien im Jahr 2020 von einem Expertengremium überarbeitet und 2021 veröffentlicht (16). Dabei wurden weitere klinische Kriterien sowie die Möglichkeit einer genetischen Diagnostik berücksichtigt.

Tabelle 2: Überarbeitete NF1-Diagnostikkriterien aus dem Jahr 2021

Merkmal	Mindestanzahl	Weiteres
A. ≥ 2 der folgenden Kriterien müssen erfüllt sein, wenn kein Elternteil an einer NF1 erkrankt ist:		
CALM	6	Größter Durchmesser > 5 mm vor der Pubertät > 15 mm nach der Pubertät
Axilläres oder inguinales Freckling	nicht zutreffend	mind. 1 der Pigmentbefunde sollte bilateral zu finden sein
Neurofibrome	2*	* ≥ 1 , wenn plexiform
OPG	1	
LN in der Spaltlampenuntersuchung oder choroidale Abnormalitäten in der Optischen Kohärenztomographie/Nahinfrarot-Bildgebung	2	Iris-Hamartome bzw. helle, fleckige knotige Strukturen
Typische knöcherne Veränderungen	1	z.B. Keilbeinflügeldysplasie, anterolaterale Tibiaverkrümmung oder

		eine Pseudarthrose eines langen Röhrenknochens
Heterozygote pathogene <i>NF1</i> -Variante in mind. 50% der gesunden Zellen (z.B. weißen Blutkörperchen)	1	
B. das Kind eines Elternteils, der die A-Kriterien erfüllt, wenn ≥ 1 A-Kriterium erfüllt ist.		

Genetische Diagnostik wurde bisher vor allem für Personen empfohlen, die einen ungewöhnlichen NF1-Phänotyp aufweisen (z.B. mit symmetrischen spinalen Neurofibromen auf unterschiedlicher Nervenwurzelhöhe mit oder ohne weitere NF1-Merkmale) sowie für Kinder > 8 Jahre, die die Kriterien noch nicht vollständig erfüllen. (17) Die genetische Diagnostik ermöglicht auch bei Kleinkindern mit multiplen CALM ohne positive Familienanamnese und in Familien mit CALM mit und ohne Freckling eine differentialdiagnostische Abgrenzung z.B. zu einem LS. (18; 19)

1.5. Differentialdiagnosen einer NF1

Das LS, verursacht durch Varianten in *SPRED1*, ist durch CALM, Freckling in den Hautfalten, Lernschwierigkeiten und Makrozephalus gekennzeichnet. Neurofibrome, LN, sowie ZNS-Tumoren fehlen. (18) Eine weitere Differentialdiagnose bei Patient*innen mit den klinischen Merkmalen einer NF1, aber ohne Nachweis einer pathogenen Variante in *NF1* oder *SPRED1*, stellt das CMMRD dar, ein autosomal-rezessives Tumordispositionssyndrom des Kindesalters, das durch pathogene Varianten in beiden Allelen eines der *MMR* (mismatch repair) – Gene (*MLH1*, *MSH2*, *MSH3*, *MSH6*, *PMS2*) verursacht wird. CALM finden sich in 62-97% der CMMRD-Patient*innen, selten jedoch in einer so hohen Anzahl wie bei der NF1. Ungefähr 20% der CMMRD-Patient*innen erfüllen mehr als ein diagnostisches Kriterium der NF1. (20) Kutane oder plexiforme Neurofibrome, LN, sowie Tibia- und Sphenoiddysplasie sind auch bei CMMRD-Patient*innen beschrieben, LGG sind bei CMMRD allerdings eine Rarität. (21) Die Prävalenz eines CMMRD unter Patient*innen mit der klinischen Diagnose einer NF1 oder eines LS wird mit ca. 0,4% eingeschätzt. (8, 67) Das CMMRD ist mit einem außergewöhnlich hohen Tumorrisiko assoziiert. Nahezu alle CMMRD-Patient*innen entwickeln eine Tumorerkrankung innerhalb der ersten drei Lebensdekaden,

überwiegend während der ersten zehn Lebensjahre. Das Spektrum onkologischer Erkrankungen ist sehr breit und umfasst vor allem hämatoonkologische Erkrankungen (u.a. T-Zell-Lymphome), höhergradige ZNS-Tumoren und Karzinome, die mit dem Lynch-Syndrom assoziiert werden. (22)

Das so genannte LEOPARD-Syndrom gehört wie die NF1 in die Gruppe der RASopathien und weist gewisse Ähnlichkeiten mit der NF 1 auf. Das Akronym steht für die Hauptmerkmale der Erkrankung: Lentiginose, EKG-Veränderungen, okuläre Auffälligkeiten (Hypertelorismus), Pulmonalstenose, Anomalien der Geschlechtsorgane, Kleinwuchs sowie sensineurale Taubheit. Patient*innen mit LEOPARD-Syndrom ähneln phänotypisch sehr stark Noonan-Patient*innen, haben aber auf dem gesamten Integument verteilte CALM, die für das Noonan-Syndrom untypisch sind. Wie bei der NF1 treten die unterschiedlichen Symptome in Abhängigkeit vom Alter der Patient*innen auf, entsprechend lässt sich die Erkrankung von einer NF1 gerade bei jüngeren Patient*innen schwer unterscheiden. Ursächlich für das LEOPARD-Syndrom sind in den meisten (ca. 85%) Fällen Varianten in *PTPN11*, zudem finden sich Varianten in *BRAF* und *RAF1*. (23)

1.6. Bekannte Genotyp – Phänotyp – Assoziationen

Die NF1 weist eine große Vielfalt klinischer Manifestationen, selbst innerhalb betroffener Familien mit identischer Keimbahnvariante, auf. Um die phänotypische Ausprägung frühzeitig vorhersagen zu können und das klinische Management entsprechend zu verbessern, sind Phänotyp-Genotyp-Korrelationen von großer klinischer Relevanz. Aufgrund der hohen Anzahl an bisher beschriebenen pathogenen Varianten im *NF1*-Gen ist dies bisher aber nur für wenige Varianten gelungen. Zudem variieren die zugrundeliegenden Mechanismen stark, so führen z.B. eine Haploinsuffizienz im *NF1*-Gen, die biallelische *NF1*-Inaktivierung oder das Vorhandensein von zusätzlichen Modifikatoren (andere Genveränderungen, hormonelle Besonderheiten) zu unterschiedlichen klinischen Ausprägungen. Deletionen, die das gesamte *NF1*-Gen umfassen (1.4 Mb), sind mit fazialen Dysmorphien, kognitiver Entwicklungsstörung, früher Entwicklung von Neurofibromen und häufigerem Tumoraufreten assoziiert. (24) Bei ca. 1% der NF1-Patient*innen liegt eine Variante im Codon 1809 vor, die mit dem Auftreten von CALM, Kleinwuchs und einer Pulmonalstenose sowie seltener mit sichtbaren plexiformen oder dermalen Neurofibromen assoziiert ist. (25) Andere Varianten wurden mit dem Fehlen von Neurofibromen assoziiert. (26) Individuen mit der Deletion *p.Met992del* weisen einen milden Phänotyp auf, charakterisiert durch das

Vorhandensein von CALM und Freckling und das Fehlen weiterer kutaner Merkmale, wie z.B. Neurofibromen. Diese *NF1*-Variante scheint zudem mit Lernschwierigkeiten assoziiert zu sein. (27) Weitere Arbeiten zeigen einen Zusammenhang zwischen der Entwicklung von oberflächlichen Neurofibromen und symptomatischen spinalen Neurofibromen und dem Vorliegen von Missense-Mutationen im Bereich der Codons 844-848. Ca. 1% der *NF1*-Patient*innen weisen diese Varianten auf und zeigen zudem ein häufigeres Auftreten maligner Manifestationen, wie z.B. OPG. (28)

Das Vorliegen einer monoallelischen Keimbahnvariante ist für die Entwicklung mancher *NF1*-typischer Symptome, wie z.B. Autismus-Spektrum-Störungen (ASS), ausreichend. Für die Entwicklung von CALM und Neurofibromen ist eine (somatische) biallelische *NF1*-Inaktivierung notwendig. Diese resultiert in einer ausbleibenden Expression von Neurofibromin, die die Entwicklung niedriggradiger Gliome (Low grade Gliome, LGG) begünstigt. (29) Für die Entstehung höhergradiger Tumoren sind weitere somatische Mutationen notwendig, beispielsweise ist das Auftreten von malignen peripheren Nervenscheidentumoren (MPNST) mit dem zusätzlichen Auftreten von *TP53*-Mutationen assoziiert. (30)

1.7. Nicht – neoplastische Manifestationen einer *NF1*

1.7.1. Café – au – lait Makulae

Die häufigsten nicht-neoplastischen Manifestationen der *NF1* sind Hautveränderungen. CALM liegen bei mindestens 95% der *NF1*-Patient*innen vor und gehören zu den diagnostischen Kriterien. (2) Mikroskopisch zeigen sich bei diesen Läsionen dichte Populationen von Melanozyten mit biallelischer *NF1*-Inaktivierung. Die CALM-Melanozyten bei *NF1*-Patient*innen weisen ein schnelleres Wachstum verglichen zu denen gesunder Personen auf. (31; 32) CALM können bereits bei Geburt vorhanden sein, entwickeln sich jedoch meistens im Laufe der ersten zwei Lebensjahre als erstes klinisches Merkmal einer *NF1*. CALM sind nicht mit einer erhöhten Transformationsrate zu malignen Tumoren assoziiert. (33) Iris-Hamartome, auch LN genannt, können im Alter von fünf bis zehn Jahren auftreten. Sie zählen ebenfalls zu den klinischen Diagnostikkriterien für eine *NF1* (s. Tabelle 1), haben in der Regel aber keinen Krankheitswert. (34)

1.7.2. Skelettdeformitäten

Der Verlust beider *NF1*-Kopien in Osteoklasten und/oder Osteoblasten begünstigt die Entwicklung einer Osteopenie und von Skelettdeformitäten, die sich bei bis zu ca. 40% der *NF1*-Patient*innen finden. (35) Diese sind mit einem erhöhten Frakturrisiko verbunden und wurden primär bei *NF1*-Patient*innen mit Tibiadysplasien beschrieben. Im Falle einer Fraktur führt das fehlerhafte Zusammenwachsen der knöchernen Segmente zur Entwicklung von Pseudarthrosen. (36)

1.7.3. Vaskulopathie

Die *NF1* ist mit der Entwicklung zumeist arterieller Gefäßerkrankungen assoziiert (Aneurysmata, arteriovenöse Gefäßmalformationen, Stenosen), die sowohl größere Gefäße, z.B. Nierenarterien, als auch kleine, z.B. das Moyamoya Syndrom (MMS) im Gehirn, betrifft. (37-39) Das MMS ist eine progressive Verschlusskrankheit der cerebralen Gefäße, im Rahmen dessen sich Kollateralgefäße ausbilden, die ein charakteristisches Bild in der Angiographie aufweisen (japanisch Moyamoya = Nebel). Das Vorhandensein eines MMS erhöht das Risiko für einen ischämischen oder hämorrhagischen Schlaganfall. (40) Die Vaskulopathien betreffen meistens Kinder und Jugendliche. (41)

1.7.4. Makrozephalus

Die meisten *NF1*-Patient*innen haben einen Makrozephalus – ca. 40 - 50% der Patient*innen weisen dieses Merkmal auf. (42; 43) Ein Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein eines Makrozephalus und der Entwicklung eines OPGs wird diskutiert. (44; 45) Ca. 1-5% der *NF1*-Patient*innen weisen zudem einen Hydrozephalus auf. Mögliche Ursachen dafür können eine idiopathische Aquäduktstenose, Hamartome im Bereich der Pons, des Tectum cerebelli oder des Aquädukts, Synechien, OPG, LGG des Hirnstammes und in seltenen Fällen Glioblastome sein. In manchen Fällen lassen sich mehrere dieser Tumorentitäten gleichzeitig bei einer Person finden. Die Ventrikelerweiterung kann dabei symptomatisch oder asymptomatisch sein. (46)

1.7.5. Focal areas of signal intensity

Zu den weiteren nicht-malignen strukturellen ZNS-Manifestationen im Rahmen einer *NF1* gehören die so genannten FASI (focal areas of signal intensity), bekannt auch als

UBO (unidentified bright objects). Dies sind hamartomatöse Gewebebestandteile, abnormales Myelin oder Gliosen. Die Läsionen bleiben asymptomatisch und können sich im Erwachsenenalter zurückbilden. (47) Im MRT lassen sich die Läsionen hyperintens in den T2- und iso- oder leicht hyperintens in den T1-Sequenzen darstellen und nehmen kein Kontrastmittel auf. FASI finden sich in 70% (48) bei fast allen NF1-Patient*innen (49), sind meistens im cerebellären Marklager, medialen Temporallappen, Thalamus und in den Basalganglien, meistens bilateral, lokalisiert. (49) Manche Autor*innen schlagen vor, dass aufgrund der hohen Spezifität der FASI bei NF1-Patient*innen, diese als weiteres diagnostisches Kriterium dienen können. (48) Ob ein Zusammenhang zwischen dem neurokognitiven Phänotyp und dem Vorhandensein, der Anzahl und/oder Lokalisation von FASI vorliegt, ist Gegenstand kontroverser Diskussionen. (50-52)

1.7.6. Beeinträchtigungen der neurologischen Funktionen im Rahmen einer NF1

Die NF1 geht mit einem breiten Spektrum an kognitiven Einschränkungen und Beeinträchtigungen in der neurologischen Entwicklung einher. Verglichen mit Gleichaltrigen haben NF1-Kinder häufiger eine motorische Entwicklungsverzögerung. (53) Motorische Einschränkungen sind im Bereich der Handgeschicklichkeit, dem Umgang mit Bällen (Werfen und Fangen) und dem Gleichgewicht zu erwarten. (54) Eine allgemeine Intelligenzminderung sowie auch Defizite in den exekutiven Funktionen und der visuell-räumlichen Verarbeitung werden ebenfalls beobachtet. (55) Diese umfassen sowohl die Planung wie auch die abstrakte Begriffsbildung, die Einführung mentaler Regeln und Aufgaben, das Lösen von Problemen, die kognitive Flexibilität, die emotionale Regulierung und die Aufmerksamkeitssteuerung. (56; 57) Lernschwierigkeiten, Teilleistungsstörungen (Dyslexie, Dyskalkulie), Aufmerksamkeitsstörungen bis hin zum Aufmerksamkeits-Defizit-Hyperaktivitäts-Syndrom (ADHS) gehören ebenfalls zu dem neurologischen Phänotyp. (58) Untersuchungen an NF1-Mäusen zeigen, dass die Konzentration an Neurofibromin mit dem Dopaminspiegel korreliert. Mäuse mit biallelischem *NF1*-Verlust in den Nervenzellen weisen Beeinträchtigungen in den hippokampalen Funktionen (u.a. Lernen, Aufmerksamkeit) auf. (59) Darüber hinaus wird bei NF1-Patient*innen von Einschränkungen in unterschiedlichen Bereichen der sozialen Funktionsfähigkeiten berichtet sowie eine erhöhte Inzidenz von ASS. (60)

1.7.7. NF1 – Neuropathie

Die NF-Neuropathie ist eine schmerzfreie, distale sensomotorische axonale Neuropathie, charakterisiert durch eine Verdickung der Nervenfasern, eine Reduktion der myelinisierten Nervenfasern und durch Veränderungen des Epi-, Peri- und Endoneuriums mit einer gestörten Signalübertragung zwischen den Zellen, die Schmerzen, Muskelschwäche und Dysästhesien (Taubheit und Brennen) verursachen kann. Die Diagnose einer Neuropathie wird mithilfe neurophysiologischer Untersuchungen (z.B. Elektroneurographie) gesichert. Das Ausmaß der Neuropathie ist in der Regel mild. Wichtig ist die Abgrenzung von Neuropathien, die Folge von dermalen, subkutanen und plexiformen Neurofibromen und MPNST sind. (61)

1.8. Neoplasien im Rahmen einer NF1

Die Lebenserwartung von Personen mit NF1 ist um 8 – 21 Jahren reduziert, die häufigste Ursache hierfür sind maligne Neoplasien. NF1-Patient*innen haben im Vergleich zur Gesamtbevölkerung ein um 5–15% erhöhtes Risiko für benigne und maligne Tumorerkrankungen. (62) Manche Autor*innen beschreiben sogar ein über 2,5-fach erhöhtes Tumorrisiko verglichen mit der Gesamtbevölkerung. (63)

1.8.1. Neurofibrome

Die häufigsten Tumoren bei Kindern und Erwachsenen mit NF1 sind von den Nervenwurzeln ausgehende, sogenannte Neurofibrome (dermal – kutan und subkutan; plexiform – diffus und nodulär), periphere Nervenscheidentumoren und deutlich seltener MPNST. Neurofibrome finden sich bei ca. 60–70% der NF1-Patient*innen. (64) Im Gegensatz dazu beträgt das Lebenszeitrisko für die Entwicklung eines peripheren Nervenscheidentumors 8–13%. (65) Dermale Neurofibrome entwickeln sich von multipotenten Vorläuferzellen der Haut wohingegen plexiforme Neurofibrome aus Vorläufern der Schwann-Zellen entstehen. (66) Dermale Neurofibrome entwickeln sich üblicherweise in der späten Adoleszenz, gelegentlich treten diese aber auch bereits bei Kindern auf. Betroffene Patient*innen klagen vor allem über Juckreiz, Brennen, Schmerzen, Blutungen und kosmetische Probleme. Subdermale und spinale Neurofibrome können Schmerzen oder neurologische (sensorische und motorische) Defizite verursachen. Paraspinale Neurofibrome können Kompressionen des Rückenmarks verursachen, die nicht mit neurologischen Symptomen einhergehen

müssen. Im Falle eines progressiven neurologischen Defizits sollte immer eine operative Entfernung angestrebt werden.

Die schmerzlosen plexiformen Neurofibrome sind typischerweise bereits bei Geburt nachweisbar und bei Kindern und Jugendlichen vor allem durch ein schnelles Wachstum charakterisiert. (67)

Über 50% der NF1-Patient*innen haben Neurofibrome mit ausgeprägtem Tiefenwachstum. Eine Ganzkörper-MRT-Untersuchung ist erforderlich, um die genaue Tumorlast zu definieren. (68) Auch wenn diese Tumoren eigentlich benigne sind, können sie durch Kompression und Verdrängung benachbarter Strukturen und Organe teilweise schwerwiegende Symptome hervorrufen, wie z.B. starke Schmerzen, erhebliche neurologische Defizite, Dysphagie, Dyspnoe, Deformationen und lebensbedrohliche Hämorrhagien. In seltenen Fällen erfolgt eine maligne Transformation zu MPNST. (69)

1.8.2. Low – grade Gliome

LGG als NF1-typische Tumorentität sind histologisch meistens pilozytische Astrozytome und treten vor allem im Bereich der Sehbahn und des Hirnstamms auf, können aber auch in anderen Hirnregionen sowie im Rückenmark auftreten. (70) OPG sind die häufigsten ZNS-Tumoren bei NF1-Patient*innen und werden bei 15–20% aller NF1-Träger*innen beschrieben. (71) Diese Tumoren treten meistens bei Kindern unter 7 Jahren auf und sind meistens asymptomatisch, können sich aber durch Proptosis, Visusbeeinträchtigung oder eine Pubertas praecox manifestieren. Das weibliche Geschlecht, ein Erkrankungsalter < 2 Jahren und postchiasmatische OPG haben eine schlechtere Prognose bezüglich der Visusbeeinträchtigung. (71) LGG der Hirnstamm treten eher bei älteren Kindern auf. Betroffene Kinder können durch die Symptome eines Hydrocephalus occlusus durch eine ventrikuläre Obstruktion auffallen. Oft sind sie jedoch ein Zufallsbefund in einer MRT-Untersuchung, die aufgrund nicht damit assoziierter Beschwerden veranlasst worden ist. (72)

2. Abstracts der Manuskripte, die dieser Dissertation zu Grunde liegen

Angelova-Toshkina D, Holzapfel J, Huber Schimmel M, Wieczorek , Gnekow AK, Frühwald MC, Kuhlen M.

Neurofibromatosis type 1: A comparison of the 1997 NIH and the 2021 revised diagnostic criteria in 75 children and adolescents. **Genet Med**. 2022 Sep;24(9):1978-1985.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1098360022007857>

Im Rahmen der vorgelegten Dissertation haben wir eine Kohorte aus Kindern und Jugendlichen identifiziert, die in der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin mit dem Verdacht auf eine NF1 und/oder klinischer Diagnose einer NF1 behandelt wurden. Für diese Patient*innen haben wir im Rahmen der Arbeit „**Neurofibromatosis type 1: A comparison of the 1997 NIH and the 2021 revised diagnostic criteria in 75 children and adolescents**“ die überarbeiteten Diagnostikkriterien aus dem Jahr 2021 mit den früheren NIH-Diagnostikkriterien verglichen. Wir haben untersucht, ob durch die Überarbeitung der Kriterien eine bessere Abgrenzung zu Differentialdiagnosen wie das LS und CMMRD gelingt. Dafür haben wir eine Datenbankrecherche in dem Krankenhausinformationssystem der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin des Universitätsklinikums in Augsburg für den Zeitraum zwischen 2017 und 2020 durchgeführt. Es wurde nach Patient*innen gesucht, deren Diagnosen mit dem ICD-10-Code Q85.0 gekennzeichnet wurden, der klinische Phänotyp dieser Patient*innen wurde retrospektiv anhand ihrer Akten analysiert. Insgesamt haben wir 75 Patient*innen identifiziert (medianes Alter 11,0 Jahre; Spanne 1,1 – 22,6 Jahre; 35 weiblich). Die revidierten Diagnostikkriterien wurden bei 57 Patient*innen zum letzten Follow-up-Zeitpunkt erfüllt, eine pathogene *NF1*-Variante wurde bei 26 von den genetisch untersuchten 32 (81,3%) Patient*innen identifiziert. Bei 12 Patient*innen wurde die Diagnose einer NF1 nach der Durchführung einer genetischen Testung gestellt. Bei 31 Patient*innen ließen sich nur Pigmentbefunde erkennen, bei 9 Patient*innen fielen mit der Zeit weitere Manifestationen der Erkrankung auf. Bei einem Kind wurde eine heterozygote Variante unklarer Signifikanz im *SPRED1*-Gen festgestellt. Bei einem weiteren Kind waren die Voraussetzungen für Untersuchungen bezüglich eines CMMRD erfüllt. Insgesamt 3 Patient*innen wiesen segmentale klinische NF1-Befunde auf. 3 weitere Patient*innen erfüllten die NIH-Diagnostikkriterien nicht, einer davon zeigte zusätzlich ein CMMRD-Merkmal, ohne die Anforderungen für weiterführende Untersuchungen diesbezüglich zu erfüllen. Letztendlich konnten wir mit der Arbeit

zeigen, dass in unserer pädiatrischen Kohorte anhand der überarbeiteten Diagnostikkriterien mehr Patient*innen mit nachgewiesener NF1 identifiziert werden konnten als mit den NIH-Diagnostikkriterien. (73)

Angelova-Toshkina D, Decker JA, Traunwieser T, Holzapfel J, Bette S, Huber S, Schimmel M, Vollert K, Bison B, Kröncke T, Bramswig NC, Wieczorek D, Gnekow AK, Frühwald MC, Kuhlen M.

Comprehensive neurological evaluation of a cohort of patients with neurofibromatosis type 1 from a single institution. **Eur J PAediatr Neurol**. 2023 Mar 5;43:52-61.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1090379823000302>

Für den zweiten Teil der Dissertation, im Rahmen der Arbeit „**Comprehensive neurological evaluation of a cohort of patients with neurofibromatosis type 1 from a single institution**“ haben wir für die Patientenkohorte

(1) das Spektrum an ZNS-Manifestationen charakterisiert,
(2) radiologische Merkmale im ZNS durch Bildanalysen untersuchen lassen, und (3) nach Assoziationen zwischen dem Genotyp bei genetischer Bestätigung der Diagnose und dem Phänotyp gesucht.

Insgesamt 54 von 75 (72%) Patient*innen präsentierten sich mit neurologischen Manifestationen, davon 26 mit strukturellen und funktionellen Auffälligkeiten, 21 nur mit funktionellen und 7 nur mit strukturellen. FASI wurden bei 29 von 43 (67,4%) Patient*innen identifiziert, bei 5 von 43 (11,6%) fielen zerebrovaskuläre Pathologien auf. Eine Entwicklungsverzögerung wurde für 31 von 75 (41,3%) Patient*innen berichtet, Lernschwierigkeiten für 20 von 75 (26,7%). OPG fanden sich bei 18 von 43 (41,9%) Patient*innen, 13 von 43 (30,2%) hatten ein LGG außerhalb der Sehbahn. 12 Patient*innen haben Chemotherapie bekommen. Außer dem bereits bekannten Zusammenhang zwischen der klinischen Ausprägung und dem Vorliegen einer *NF1*-Mikrodeletion fanden sich keine Assoziationen zwischen dem neurologischen Phänotyp und dem Vorhandensein von FASI. Zusammenfassend lässt sich ableiten, dass ein breites Spektrum an neurologischen Manifestationen bei mindestens 70% der Patient*innen zu erwarten ist. Regelmäßige neuropsychologische Testungen (NPT) sollten neben den klinischen Verlaufskontrollen und regulären ophthalmologischen Untersuchungen auf das Vorliegen eines OPG ein Teil der Betreuung von NF1-Kindern und Jugendlichen sein. (74)

3. Diskussion

Die Neurofibromatose weist eine breite klinische Variabilität auf. Klassischerweise wird die Diagnose einer NF1 aber trotzdem anhand der klinischen, sogenannten NIH Diagnosekriterien aus dem Jahr 1987 (revidiert 1997) gestellt. (16) Die klinische Diagnose einer NF1 birgt zahlreiche Herausforderungen, z.B. die geringe Sensitivität der NIH Diagnosekriterien bei jungen Patient*innen. Ein weiteres Problem ist die differentialdiagnostische Abgrenzung zu phänotypisch ähnlichen Erkrankungen (z.B. LS, CMMRD, LEOPARD Syndrom, andere RASopathien und McCune Albright Syndrom), die anhand der NIH-Diagnosekriterien z.T. fälschlicherweise als NF1 diagnostiziert werden. Insbesondere bei Kindern, die ausschließlich Hautbefunde aufweisen, sind die NIH-Diagnosekriterien nicht ausreichend, um andere Differentialdiagnosen auszuschließen. Aus diesen Gründen wurden die NIH-Kriterien im Jahr 2021 von internationalen Expert*innen revidiert.

3.1. Die Rolle der frühzeitigen molekulargenetischen Testung bei der Diagnosestellung

Diese Problematik spiegelt sich auch in unseren Daten wider. In der von uns identifizierten Kohorte von 75 Patient*innen erfüllten 44 (58,7%) die NIH-Diagnosekriterien zum Zeitpunkt der Diagnose/beim ersten Verdacht auf eine NF1. Im Vergleich dazu wären zu dem Zeitpunkt 56 (74,7%) Patient*innen anhand der überarbeiteten Diagnosekriterien mit einer NF1 diagnostiziert worden. Dieser Unterschied lässt sich auf die Durchführung einer molekulargenetischen Testung mit Bestätigung der Diagnose bei 11 von den 75 Patient*innen (14,7%) zurückführen. Bei den überarbeiteten Diagnosekriterien wird die genetische Diagnostik berücksichtigt, was insbesondere bei jungen Patient*innen eine wichtige Rolle spielen kann, da in einem jungen Alter oft nur suspekte Hautveränderungen vorliegen und keine weiteren klinischen NIH-Diagnosekriterien erfüllt sind. (19) Zum letzten Follow-up-Zeitpunkt war mit zunehmender Penetranz der klinischen NF1-Symptome (Freckling, Neurofibrome, OPG) und steigendem Alter der Patient*innen kein gravierender Unterschied mehr festzustellen – 53 (70,7%) Patient*innen erfüllten die NIH und 57 (76,0%) die überarbeiteten Diagnosekriterien.

3.2. Das betroffene Geschwisterkind – die Differentialdiagnose eines CMMRD

Eine weitere Änderung der revidierten Diagnosekriterien im Vergleich zu den bisherigen NIH-Kriterien ist die Berücksichtigung von betroffenen Verwandten ersten Grades. In den revidierten Kriterien wird nur noch ein betroffener Elternteil berücksichtigt, nicht jedoch ein betroffenes Geschwisterkind. (16) Diese Änderung ist insbesondere für die Abgrenzung zu einem CMMRD wichtig, da hier ein autosomal-rezessiver Erbgang vorliegt, der insbesondere bei ausschließlich betroffenen Geschwistern ohne betroffene Eltern zu diskutieren ist. Laut des CMMRD-Expertengremiums sollte diese Erkrankung immer in Erwägung gezogen werden, wenn nur ein Geschwister von der Symptomatik betroffen ist. (75) In unserer Kohorte waren ausschließlich Eltern als Verwandte ersten Grades von NF1-Symptomen betroffen. CALM wurden allerdings bei 4 Geschwistern bei klinisch unauffälligen Eltern dokumentiert. Zudem fand sich ein Geschwister mit CALM und einem Hodgkin Lymphom. In allen Fällen ist die Notwendigkeit weiterführender Diagnostik zu prüfen, um ein CMMRD als Differentialdiagnose auszuschließen.

3.3. Die Herausforderung der Mosaik-NF1

Einen Sonderfall stellt die Mosaik-NF1 dar. Wir haben 3 Patient*innen mit einer segmentalen Verteilung der Neurofibrome und/oder CALM identifiziert. Zwei Patient*innen erfüllten sowohl die NIH- als auch die überarbeiteten Diagnosekriterien (inklusive bilateraler Pigmentbefunde), allerdings ohne Nachweis einer pathogenen NF1-Variante in der Blutuntersuchung. In diesen Fällen wird von der Expertenkommission eine genetische Testung des betroffenen Gewebes auf ein Mosaik empfohlen. (16) Die Abgrenzung einer Mosaik-NF1 ist sowohl für die Betreuung von betroffenen Patient*innen und deren Prognoseeinschätzung, aber auch für die genetische Beratung wichtig.

3.4. Vorgehen bei isolierten Pigmentbefunden

Laut Konsensempfehlungen wird eine genetische Testung für Kinder empfohlen, bei denen die Diagnose einer NF1 ausschließlich aufgrund von Pigmentbefunden (CALM und/oder Freckling) gestellt wurde. Unter diesen Umständen sollten Alternativdiagnosen wie z.B. das LS und CMMRD differentialdiagnostisch ausgeschlossen werden. (16) In unserer Kohorte befanden sich 31 (41,3%) Patient*innen mit isolierten

Pigmentbefunden, nur 16 (51,6%) davon wurden genetisch untersucht. Bei 1 Patienten wurde – bei negativer *NF1* Genetik - auch das *SPRED1*-Gen untersucht. Dabei fand sich eine Variante von unklarer Signifikanz, bei 2 weiteren Patient*innen mit unauffälliger *NF1*-Genetik fehlte bisher die Untersuchung von *SPRED1*. Einer dieser Patienten wies zusätzliche Merkmale auf, die verdächtig für das Vorliegen eines CMMRDs sind.

3.5. Genotyp – Phänotyp – Korrelationen

Bisher sind nur für 4 pathogene Varianten in *NF1* Genotyp-Phänotyp-Korrelationen bekannt, diese betreffen 10 – 15% der *NF1*-Patient*innen. (76) In unserer Kohorte wurde bei einem schwer betroffenen Patienten eine 5,15 Mb große Mikrodeletion 17q11.2q12 identifiziert, die das *NF1*-Gen umfasst. Keine der weiteren bekannten Genotyp-Phänotyp-Korrelationen wurde in unserer Patientengruppe bisher nachgewiesen. Somit zeigt auch unsere Kohorte, dass das breite genetische Spektrum der Erkrankung nur in wenigen Fällen Rückschlüsse auf die klinische Ausprägung zulässt.

3.6. Mögliche weitere diagnostische Kriterien

FASI, Naevus anaemicus und das juvenile Xanthogranulom wurden von dem Expertengremium auch als diagnostische Kriterien vorgeschlagen, letztendlich aber aufgrund ungenügender Daten zu Spezifität und/oder Sensitivität nicht in die revidierten Kriterien aufgenommen. (16) Bei 29 von 43 (67,4%) Patient*innen wurden in der kranialen MRT FASI detektiert. Bei 11 (37,9%) dieser Patient*innen erfolgte eine genetische Untersuchung, bei allen wurde eine pathogene Variante in *NF1* identifiziert. Für 5 (6,9%) unserer Patient*innen hätte die Diagnose *NF1* anhand von FASI in einem jüngeren Alter gestellt werden können als letztendlich möglich war. Somit sollte aus unserer Sicht die Hinzunahme der FASI als diagnostisches Kriterium durchaus weiter diskutiert werden. Bei keiner/keinem Patientin/Patienten war ein juveniles Xanthogranulom oder ein Naevus anaemicus dokumentiert.

Neben FASI ist die *NF1* mit einem breiten Spektrum weiterer ZNS-Manifestationen assoziiert. In unserem Kollektiv präsentierten sich 54 von 75 (72%) der Patient*innen mit neurologischen Symptomen oder neuroradiologischen Auffälligkeiten.

3.7. Zusammentreffen zweier seltener Erkrankungen – das MMS im Rahmen einer NF1

Zerebrovaskuläre Erkrankungen sind bei NF1 zwar selten, aber klinisch bedeutend. Entsprechende Auffälligkeiten fanden wir bei 5 von 43 (11,6%) Patient*innen. Bei 4 (9,3%) dieser Patient*innen wurde ein MMS diagnostiziert, 2 Patient*innen erlitten einen ischämischen Schlaganfall. Unsere Zahlen sind höher als die, die in der Literatur zu finden sind (2,5 – 6%). (41; 77; 78) Der bei einer NF1 zu einer Vaskulopathie führende Pathomechanismus ist nicht gänzlich geklärt, häufig entsteht ein MMS infolge einer Radiotherapie. (79-81) Keine*r unserer Patient*innen hatte sich im Vorfeld allerdings einer Strahlentherapie unterzogen. Mehrere Autoren assoziieren das Vorliegen eines MMS mit dem Vorhandensein von Veränderungen im Bereich des kurzen Arms von Chromosom 17 (17q.25) (82), somit wäre eine genetische Assoziation mit NF1 durchaus denkbar.

3.8. Motorische Schwierigkeiten im Rahmen einer NF1

Schwierigkeiten im Bereich der Motorik werden bei $\frac{1}{3}$ – $\frac{1}{2}$ der NF1-Patient*innen berichtet. (83; 84) In Übereinstimmung mit diesen Angaben hatten 24 (32%) unserer Patient*innen eine motorische Entwicklungsverzögerung, 20 (26,7%) wiesen motorische Defizite (sowohl grob- als auch feinmotorisch) auf und 8 (10,7%) aller Patient*innen zeigten Koordinationsschwierigkeiten.

3.9. Neurokognition, ADHS, ASS und NF1 – die Notwendigkeit einer regelmäßigen NPT

Neurokognitive Defizite wie z.B. Lernschwierigkeiten, Konzentrationsschwierigkeiten, Intelligenzminderung, Aufmerksamkeitsdefizite (auch im Rahmen eines ADHS), sowie ASS treten häufiger bei Kindern mit NF1 als in der Allgemeinbevölkerung auf. (85-87) Teilleistungsstörungen (Leistungsminderung in bestimmten Bereichen wie Lesen, Rechnen oder Schreiben) sind in ca. 20% der NF1-Patient*innen beschrieben und treten somit doppelt so oft wie in der allgemeinpädiatrischen Population auf, (56) ohne dass diese sich auf eine allgemeine intellektuelle Minderung oder Begleiterkrankungen zurückführen lassen. 75% der Kinder mit einer NF1 benötigen aufgrund von Lernstörungen unterschiedliche Förderungen und/oder eine besondere Schulform (z.B. Förderschule). (88) Lern- und Konzentrationsschwierigkeiten waren bei 20 (26,7%) bzw.

12 (16,0%) unserer Patient*innen dokumentiert. Die häufig eingeschränkten kognitiven Fähigkeiten von Kindern mit NF1 machen eine routinemäßige, umfangreiche NPT notwendig, um Defizite frühzeitig zu erkennen und Hilfemaßnahmen einzuleiten. In entsprechenden Testungen zeigten Kinder mit NF1 tendenziell Defizite im Bereich der Exekutivfunktionen, wie z.B. Problemlösen und Entscheidungsfindung, Planung und Aufgabenwechsel. (89; 90) Auch die visuell-räumliche Verarbeitung ist eingeschränkt. (89) Übereinstimmend damit waren in unserer Kohorte die visuelle Verarbeitung, die psychomotorische Geschwindigkeit und die kognitive Verarbeitungsgeschwindigkeit beeinträchtigt. Diese Daten sollten jedoch mit Vorsicht interpretiert werden, da insgesamt wenig Kinder in unserer Kohorte getestet wurden und alle getesteten Patient*innen ein LGG im Rahmen ihrer NF1 entwickelt hatten. (91) Dies könnte einen Einfluss auf die neuropsychologische Funktion gehabt haben. (92)

Kinder mit NF1 haben spezifische Aufmerksamkeitsdefizite, vor allem die anhaltende Aufmerksamkeit (Daueraufmerksamkeit) ist reduziert. Bis zu 60% der Kinder mit NF1 erfüllen die diagnostischen Kriterien eines ADHS, vorwiegend vom unaufmerksamen Typ oder Mischtyp. (58) In unserer Kohorte wurde bei nur 4 (5,3%) der Patient*innen ein ADHS diagnostiziert. Die NPT wurden jedoch nur sporadisch durchgeführt, möglicherweise war die Dokumentation auch unvollständig. Eine höhere Sensibilisierung von Personen, die in die Behandlung und Versorgung von Kindern mit NF1 eingebunden sind, für diese Problematik ist notwendig, um betroffene Kinder rechtzeitig zu identifizieren.

Bei Personen mit NF1 wurden eine allgemeine Verschlechterung der sozialen Fähigkeiten in verschiedenen Bereichen sowie ein häufigeres Auftreten von ASS (etwa 25 – 40%) festgestellt. (85; 86) Die Anzahl an Patient*innen mit ASS in unserer Kohorte war auffällig niedrig, ASS wurde nur bei einem Patienten (1,3%) diagnostiziert. Auch hier ist eine deutliche Unterdiagnose aus unterschiedlichen Gründen anzunehmen. Bei zusätzlichen 6 (8,0%) Patient*innen berichteten die Eltern über Verhaltensauffälligkeiten.

In Anbetracht der weitreichenden Folgen neurokognitiver Defizite, ADHS und ASS plädieren wir für die Einführung regelmäßiger NPT im Rahmen der Betreuung von Kindern mit NF1. Der Einsatz von Physio-, Ergo- und Psychotherapie sowie ggf. der Besuch einer Förderschule sollte vor allem bei jüngeren Kindern mit entsprechenden

Beeinträchtigungen in Erwägung gezogen werden, um ihnen eine bestmögliche Entwicklung zu ermöglichen.

3.10. Die Epilepsie bei NF1 – strukturell oder auch idiopathisch?

Die Epilepsie-Prävalenz bei Patient*innen mit NF1 wird auf 4 – 13% geschätzt. (93; 94) In Übereinstimmung damit wurden bei jeweils 3 (4,0%) unserer Patient*innen eine Epilepsie sowie epilepsietypische Potentiale ohne klinisches Korrelat festgestellt. Diese Patient*innen hatten einen intrakraniellen Tumor oder wiesen strukturelle Abnormalitäten auf. Dies wurde bereits in einer Beobachtungsstudie berichtet. (93) Im Gegensatz dazu konnte in anderen Arbeiten die Ätiologie von Anfällen und/oder epilepsietypischen Potentialen in einer Untergruppe von Patient*innen mit NF1 nicht geklärt werden. (95-97)

3.11. FASI als Einflussfaktor auf die Kognition

FASI sind bei 70% bis fast allen Personen mit NF1 zu finden. Es wird angenommen, dass sich FASI während der Adoleszenz und Pubertät spontan zurückbilden. Wichtig ist die Abgrenzung von FASI und Neoplasien. (49) Die Bedeutung der FASI für die kognitiven (Dys)Funktionen wird kontrovers diskutiert. In neueren Studien wird dem Vorhandensein, der Anzahl und der Lokalisation der FASI eine positive Auswirkung auf die Kognition zugeschrieben. (98; 99) Thalamusläsionen scheinen stark mit kognitiven Beeinträchtigungen assoziiert zu sein. (100) Ein Zusammenhang zwischen der Lokalisation der FASI und den kognitiven Defiziten konnte von anderen Autoren jedoch nicht bestätigt werden. (101; 102) FASI wurden bei unseren Patient*innen in den Basalganglien, dem Hirnstamm, dem Balken, subkortikal und periventrikulär nachgewiesen. Wir konnten jedoch keinen Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein, der Anzahl und der Lokalisation der FASI und den berichteten kognitiven Defiziten feststellen. In unserer Kohorte wurden MRT-Untersuchungen allerdings vor allem aufgrund von Symptomen durchgeführt. Daher haben wir möglicherweise FASI bei Kindern ohne neurologische Symptome nicht nachgewiesen. Aktuelle Studien mit Personen mit NF1 deuten darauf hin, dass die diffusionsgewichtete MRT mikrostrukturelle Veränderungen aufzeigt, die möglicherweise mit dem kognitiven Phänotyp im Zusammenhang stehen. (103) Um die Bedeutung dieser gutartigen ZNS-Veränderungen für die Kognition, sowie die Spezifität und Sensitivität als diagnostisches Kriterium dieser im Rahmen einer NF1 besser einschätzen zu können, sind aus unserer

Sicht weitere Studien mit größeren Zahlen notwendig – unserer Erfahrung zeigt, dass FASI durchaus als diagnostisches Kriterium in Erwägung gezogen werden sollte, ein klarer Zusammenhang mit der Kognition besteht jedoch nicht.

3.12. Routine-MRT aufgrund der Tumordisposition sinnvoll?

LGG sind die häufigsten ZNS-Tumoren des Kindes- und Jugendalters (104) und bei Personen mit NF1 als Tumordispositionssyndrom nachweisbar. (70; 105) Die meisten LGG entstehen in der Sehbahn. (70; 105; 106) Unsere Kohorte zeigt die variable und oft ausgedehnte Beteiligung aller Sehbahnsegmente. (107; 108) Obwohl ein Teil unserer Patient*innen asymptomatisch war, konnten wir die hohe Prävalenz von Hirntumoren in der NF1-Kohorte bestätigen. (49) Die Indikation für eine routinemäßige diagnostische Bildgebung bei asymptomatischen Patient*innen in dieser pädiatrischen Risikopopulation ist jedoch umstritten. (106; 109) Während der Nachbeobachtungsphase hat jedoch mehr als die Hälfte unserer Tumorpatienten eine Behandlung wegen einer Visusverschlechterung und/oder eines radiologischen Progresses benötigt, was die Notwendigkeit einer angemessenen onkologischen Überwachung unterstreicht. (49; 106; 108)

3.13. Limitationen der vorliegenden Arbeit

Unsere Arbeit weist folgende Limitationen auf:

1. Die Erkenntnisse basieren auf einer retrospektiven Analyse von Patientendaten unserer Einrichtung. Es ist möglich, dass wichtige Informationen nicht erhoben und/oder unvollständig dokumentiert worden sind.
2. Routinemäßige MRT-Untersuchungen zur Überwachung bei Kindern und Jugendlichen mit NF1 sind Gegenstand kontroverser Diskussionen. So erfolgten die Untersuchungen mit unterschiedlichen Indikationen und nach unterschiedlichen MRT-Protokollen, was zu einer variablen Beurteilbarkeit der Bilder in Hinblick auf die verschiedenen Fragestellungen geführt haben kann.
3. Die Prävalenz von OPG (18/75 und 18/43 mit MRT-Befunden) in unserer Kohorte war ungewöhnlich hoch. Dies ist wahrscheinlich auf den kideronkologischen Schwerpunkt der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin und den klinischen Schwerpunkt auf ZNS-Tumoren und insbesondere LGG zurückzuführen.
4. Die choroidalen Pathologien weisen eine hohe Spezifität und Sensitivität für NF1 auf (110) und erlauben eine Abgrenzung zum LS. (110; 111) Allerdings konnten

wir die Wichtigkeit dieses neuen Kriteriums für die Diagnose nicht beurteilen, da eine Untersuchung auf choroidale Pathologien bisher kein Bestandteil der Routinediagnostik bei Kindern mit NF1 war.

5. Wir führten keine systematische Untersuchung auf bzw. Ausschluss von einer anterolateralen Verkrümmung der unteren Extremitäten in unserer Kohorte durch.
6. Schließlich ist zu beachten, dass die Detektionsrate und Spezifität der genetischen Testungen von dem Untersuchungsansatz abhängen – darunter auch die Detektion und Bestimmung von Kopienzahlveränderungen. In unserer Studie wurden die genetischen Untersuchungen in verschiedenen Laboratorien durchgeführt, nicht immer wurden alle Untersuchungsmethoden angewandt. Daher ist nicht auszuschließen, dass aus methodischen Gründen in Einzelfällen pathogene Varianten nicht identifiziert wurden.

3.14. Schlussfolgerungen

Unsere Arbeiten belegen, dass die Diagnose einer NF1 vor allem bei jungen Kindern durch die revidierten Kriterien aus dem Jahr 2021 früher gestellt werden kann als anhand der bisherigen NIH Kriterien aus dem Jahr 1997. Vor allem bei jungen Kindern, bei denen zum Zeitpunkt des Erstverdachts nur CALM/Pigmentveränderungen vorliegen, kann durch eine genetische Untersuchung frühzeitig die Verdachtsdiagnose durch den Nachweis einer pathogenen Variante in *NF1* bestätigt werden. Dies hat unmittelbare Konsequenzen für die klinische Versorgung von Betroffenen: insbesondere junge Kinder sind besonders gefährdet, OPG und andere LGG zu entwickeln. Eine frühzeitige Diagnose ermöglicht die konsequente Einleitung von entsprechenden Vorsorgeuntersuchungen aber auch die genetische Beratung beispielsweise von Eltern mit weiterem Kinderwunsch. In den verschiedenen Ambulanzen der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin werden regelmäßig Kinder mit CALM vorgestellt, denen wir seither regelhaft eine genetische Beratung und Untersuchung anbieten.

3.15. Ausblick

Durch die dezidierte Aufarbeitung aller Kinder und Jugendlichen, die mit NF1-Verdacht im ambulanten und/oder stationären Bereich in den letzten 20 Jahren in der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin gesehen wurden, haben wir auch Patient*innen mit V.a. Mosaik-NF1 identifiziert, die wir nun im Rahmen von Wiedervorstellungen weiter

aufarbeiten werden, da dies sowohl hinsichtlich der Prognose, der weiteren Betreuung einschließlich Vorsorge als auch der Beratung weitreichende Konsequenzen hat. Insbesondere bei den Patient*innen, bei denen differentialdiagnostisch ein CMMRD zu diskutieren ist, werden wir weiterführende Diagnostik veranlassen.

In unseren Untersuchungen zu neurologischen Manifestationen der NF1 hat sich gezeigt, dass ein erheblicher Teil der Kinder und Jugendlichen mit NF1 kognitive Beeinträchtigungen und andere Teilleistungsstörungen aufweist, diese bisher aber nur unzureichend erfasst und nicht systematisch untersucht wurden. Zudem wurden Informationen zu Fördermaßnahmen nicht regelhaft dokumentiert. Eine standardisierte NPT erfolgte bisher nur bei Kindern, die zusätzlich ein LGG hatten. Da sich hieraus aber weitreichende Konsequenzen für die Förderung und eine notwendige Unterstützung ergeben, sind eine systematische Untersuchung von betroffenen Kindern und die Erhebung der Inanspruchnahme von Fördermaßnahme dringend notwendig.

Der medizinische Versorgungsbedarf von Kindern und Jugendlichen mit NF1 ist hoch und erfordert eine regelmäßige Betreuung durch ein interdisziplinäres Team. Aufbauend auf diesen Arbeiten planen wir den Aufbau einer interdisziplinären Spezialsprechstunde für Kinder und Jugendliche mit NF1 sowie die Implementierung einer NPT zu definierten Zeitpunkten.

Die Ergebnisse unserer Arbeiten wurden auf nationalen und internationalen Kongressen präsentiert und Kontakte zu Spezialisten auf dem Gebiet der NF1 v.a. in Deutschland geknüpft. Hierdurch konnten wir schon jetzt die Versorgung von betroffenen Kindern verbessern helfen und werden unsere eigene klinische Expertise durch Hospitationen und einen kontinuierlichen Austausch weiter ergänzen.

Die Arbeiten zur Auswertung von zerebralen Auffälligkeiten bei Kindern und Jugendlichen mit NF1 erfolgten in Kollaboration mit der Klinik für Radiologie und basieren auf der Segmentierung von MR-Datensätzen. Zur KI-basierten Auswertung der Daten wurde eine Kollaboration mit dem Lehrstuhl für Mensch-Maschine Interaktion aufgebaut. Das Projekt wurde auf den NF1-Tagen 2022 vorgestellt und wir konnten bereits nationale Kollaborationspartner gewinnen, die dieses durch Daten unterstützen werden. Derzeit erfolgen darüber hinaus mit verschiedenen Stellen Gespräche zum Aufbau eines nationalen Registers für Patient*innen mit NF1 hier in Augsburg.

4. Zusammenfassung

4.1. Deutsch

In unserer Arbeit haben wir 75 Kinder und Jugendliche mit Verdacht auf NF1 oder Diagnose einer NF1 anhand die überarbeiteten Diagnostikkriterien aus dem Jahr 2021 und den NIH Kriterien aus dem Jahr 1997, die im klinischen Alltag eine Anwendung finden, verglichen. In unserer Kohorte ließ sich anhand der überarbeiteten Kriterien bei mehr Patient*innen in einem jüngeren Alter die Diagnose einer NF1 stellen. Der Nachweis einer pathogenen Variante in *NF1* wurde als neues Diagnostikkriterium eingeführt – anhand der genetischen Diagnostik konnte die Erkrankung bei 12 Kindern bereits diagnostiziert werden, als die klinischen Kriterien nach NIH noch nicht erfüllt waren. Dies ist insbesondere für Kinder mit Pigmentbefunden als ausschließliches klinisches Merkmal von Bedeutung. Dies unterstreicht, dass Patient*innen mit isolierten Pigmentbefunden oder segmental lokalisierten NF1-Merkmalen frühzeitig einer genetischen Beratung und ggf. Testung zugeführt werden sollten. Eine genetische Beratung und ggf. Untersuchung sollte zudem bei Vorliegen von zusätzlichen Merkmalen, die verdächtig für ein CMMRD oder andere Differentialdiagnosen sind, aufgrund der weitreichenden Konsequenzen frühzeitig erfolgen.

Von 75 Kindern und Jugendlichen mit Verdacht auf NF1 oder Diagnose einer NF1 wiesen 54 ein breites Spektrum an neurologischen Manifestationen auf. Davon hatten 26 Patient*innen sowohl strukturelle als auch funktionelle Manifestationen, 21 ausschließlich funktionelle Auffälligkeiten und 7 nur strukturelle Manifestationen. FASI wurden bei 29 von 43 Patient*innen und zerebrovaskuläre Veränderungen bei 5 identifiziert. 25 Patient*innen wurden mit einem LGG diagnostiziert. Bei einem Patienten wurde eine bekannte Mikrodeletion identifiziert, die mit dem klinischen Phänotyp korrelierte, darüber hinaus wurden keine Genotyp-Phänotyp-Korrelationen oder Korrelationen mit der Anzahl, Lokalisation und/oder Größe von FASI beobachtet. Im Vergleich zu einer Normalkohorte zeigten die 10 untersuchten Kinder mit NF1 und LGG signifikante Auffälligkeiten in der NPT. Eine interdisziplinäre Betreuung von Kindern und Jugendlichen mit NF1 einschließlich einer frühzeitigen neurologischen Befunderhebung ist notwendig.

4.2. Englisch

We evaluated 75 children and adolescents with suspicion and diagnosis of NF1 by comparing the revised diagnostic criteria for NF1 (2021) with the 1997 NIH criteria, which are used in clinical practice. Using the revised criteria in our cohort, NF1 was diagnosed in more patients at a younger age than with the NIH criteria. By the new diagnostic criterion of genetic testing 12 of our patients were diagnosed with NF1 while yet not fulfilling the NIH diagnostic criteria. This is particularly important for children with pigmentary findings only. This highlights the importance of early on genetic testing in patients with segmental NF1 features or pigmentary findings only. In patients not fulfilling diagnostic criteria and/or presenting with other findings differential diagnoses such as CMMRD need to be considered.

In a second approach, we evaluated those 59 patients finally diagnosed with NF1. Of these, 49 presented with a wide spectrum of neurological manifestations including 28 patients with structural and neurodevelopmental findings, 16 with neurodevelopmental findings, and 5 with structural findings only. A total of 18 patients were diagnosed with LGG. In one patient, genetic testing identified a microdeletion correlating with his/her clinical phenotype. No other genotype-phenotype correlation or correlation of the number, localization and/or volume of FASI with the clinical phenotype was identified. In comparison to a cohort of healthy children, neuropsychological testing revealed significant deficits in all 10 children with NF1 and LGG. An interdisciplinary management approach including early neuropsychological evaluation is urgently needed in children and adolescents with NF1.

5. Literaturverzeichnis

1. Uusitalo E, Leppavirta J, Koffert A, Suominen S, Vahtera J, et al. 2015. Incidence and mortality of neurofibromatosis: a total population study in Finland. *J Invest Dermatol* 135:904-6
2. Barrea C, Vaessen S, Bulk S, Harvengt J, Misson JP. 2018. Phenotype-Genotype Correlation in Children with Neurofibromatosis Type 1. *Neuropediatrics* 49:180-4
3. Heim RA, Silverman LM, Farber RA, Kam-Morgan LN, Luce MC. 1994. Screening for truncated NF1 proteins. *Nat Genet* 8:218-9
4. Xu GF, O'Connell P, Viskochil D, Cawthon R, Robertson M, et al. 1990. The neurofibromatosis type 1 gene encodes a protein related to GAP. *Cell* 62:599-608
5. Messiaen LM, Callens T, Mortier G, Beysen D, Vandenbroucke I, et al. 2000. Exhaustive mutation analysis of the NF1 gene allows identification of 95% of mutations and reveals a high frequency of unusual splicing defects. *Hum Mutat* 15:541-55
6. Ruggieri M, Huson SM. 2001. The clinical and diagnostic implications of mosaicism in the neurofibromatoses. *Neurology* 56:1433-43
7. Abramowicz A, Gos M. 2015. [Neurofibromin - protein structure and cellular functions in the context of neurofibromatosis type I pathogenesis]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 69:1331-48
8. Hattori S, Maekawa M, Nakamura S. 1992. Identification of neurofibromatosis type I gene product as an insoluble GTPase-activating protein toward ras p21. *Oncogene* 7:481-5
9. Basu TN, Gutmann DH, Fletcher JA, Glover TW, Collins FS, Downward J. 1992. Aberrant regulation of ras proteins in malignant tumour cells from type 1 neurofibromatosis patients. *Nature* 356:713-5
10. Dasgupta B, Yi Y, Chen DY, Weber JD, Gutmann DH. 2005. Proteomic analysis reveals hyperactivation of the mammalian target of rapamycin pathway in neurofibromatosis 1-associated human and mouse brain tumors. *Cancer Res* 65:2755-60
11. Anastasaki C, Gutmann DH. 2014. Neuronal NF1/RAS regulation of cyclic AMP requires atypical PKC activation. *Hum Mol Genet* 23:6712-21
12. 1988. Neurofibromatosis. Conference statement. National Institutes of Health Consensus Development Conference. *Arch Neurol* 45:575-8
13. Brems H, Chmara M, Sahbatou M, Denayer E, Taniguchi K, et al. 2007. Germline loss-of-function mutations in SPRED1 cause a neurofibromatosis 1-like phenotype. *Nat Genet* 39:1120-6
14. Vasen HF, Ghorbanoghli Z, Bourdeaut F, Cabaret O, Caron O, et al. 2014. Guidelines for surveillance of individuals with constitutional mismatch repair-deficiency proposed by the European Consortium "Care for CMMR-D" (C4CMMR-D). *J Med Genet* 51:283-93
15. Durno C, Ercan AB, Bianchi V, Edwards M, Aronson M, et al. 2021. Survival Benefit for Individuals With Constitutional Mismatch Repair Deficiency Undergoing Surveillance. *J Clin Oncol*:JCO2002636
16. Legius E, Messiaen L, Wolkenstein P, Pancza P, Avery RA, et al. 2021. Revised diagnostic criteria for neurofibromatosis type 1 and Legius syndrome: an international consensus recommendation. *Genet Med* 23:1506-13
17. Ruggieri M, Polizzi A, Spalice A, Salpietro V, Caltabiano R, et al. 2015. The natural history of spinal neurofibromatosis: a critical review of clinical and genetic features. *Clin Genet* 87:401-10
18. Messiaen L, Yao S, Brems H, Callens T, Sathienkijkanchai A, et al. 2009. Clinical and mutational spectrum of neurofibromatosis type 1-like syndrome. *JAMA* 302:2111-8

19. Evans DG, Bowers N, Burkitt-Wright E, Miles E, Garg S, et al. 2016. Comprehensive RNA Analysis of the NF1 Gene in Classically Affected NF1 Affected Individuals Meeting NIH Criteria has High Sensitivity and Mutation Negative Testing is Reassuring in Isolated Cases With Pigmentary Features Only. *EBioMedicine* 7:212-20
20. Wimmer K, Kratz CP, Vasen HF, Caron O, Colas C, et al. 2014. Diagnostic criteria for constitutional mismatch repair deficiency syndrome: suggestions of the European consortium 'care for CMMRD' (C4CMMRD). *J Med Genet* 51:355-65
21. Wimmer K, Rosenbaum T, Messiaen L. 2017. Connections between constitutional mismatch repair deficiency syndrome and neurofibromatosis type 1. *Clin Genet* 91:507-19
22. Perez-Valencia JA, Gallon R, Chen Y, Koch J, Keller M, et al. 2020. Constitutional mismatch repair deficiency is the diagnosis in 0.41% of pathogenic NF1/SPRED1 variant negative children suspected of sporadic neurofibromatosis type 1. *Genet Med* 22:2081-8
23. Santoro C, Pacileo G, Limongelli G, Scianguetta S, Giugliano T, et al. 2014. LEOPARD syndrome: clinical dilemmas in differential diagnosis of RASopathies. *BMC Med Genet* 15:44
24. Pasmant E, Sabbagh A, Spurlock G, Laurendeau I, Grillo E, et al. 2010. NF1 microdeletions in neurofibromatosis type 1: from genotype to phenotype. *Hum Mutat* 31:E1506-18
25. Rojnueangnit K, Xie J, Gomes A, Sharp A, Callens T, et al. 2015. High Incidence of Noonan Syndrome Features Including Short Stature and Pulmonic Stenosis in Patients carrying NF1 Missense Mutations Affecting p.Arg1809: Genotype-Phenotype Correlation. *Hum Mutat* 36:1052-63
26. Upadhyaya M, Huson SM, Davies M, Thomas N, Chuzhanova N, et al. 2007. An absence of cutaneous neurofibromas associated with a 3-bp inframe deletion in exon 17 of the NF1 gene (c.2970-2972 delAAT): evidence of a clinically significant NF1 genotype-phenotype correlation. *Am J Hum Genet* 80:140-51
27. Forde C, Burkitt-Wright E, Turnpenny PD, Haan E, Ealing J, et al. 2022. Natural history of NF1 c.2970_2972del p.(Met992del): confirmation of a low risk of complications in a longitudinal study. *Eur J Hum Genet* 30:291-7
28. Koczkowska M, Chen Y, Callens T, Gomes A, Sharp A, et al. 2018. Genotype-Phenotype Correlation in NF1: Evidence for a More Severe Phenotype Associated with Missense Mutations Affecting NF1 Codons 844-848. *Am J Hum Genet* 102:69-87
29. Gutmann DH, McLellan MD, Hussain I, Wallis JW, Fulton LL, et al. 2013. Somatic neurofibromatosis type 1 (NF1) inactivation characterizes NF1-associated pilocytic astrocytoma. *Genome Res* 23:431-9
30. Cichowski K, Shih TS, Schmitt E, Santiago S, Reilly K, et al. 1999. Mouse models of tumor development in neurofibromatosis type 1. *Science* 286:2172-6
31. De Schepper S, Maertens O, Callens T, Naeyaert JM, Lambert J, Messiaen L. 2008. Somatic mutation analysis in NF1 cafe au lait spots reveals two NF1 hits in the melanocytes. *J Invest Dermatol* 128:1050-3
32. Diwakar G, Zhang D, Jiang S, Hornyak TJ. 2008. Neurofibromin as a regulator of melanocyte development and differentiation. *J Cell Sci* 121:167-77
33. DeBella K, Szudek J, Friedman JM. 2000. Use of the national institutes of health criteria for diagnosis of neurofibromatosis 1 in children. *Pediatrics* 105:608-14
34. Lubs ML, Bauer MS, Formas ME, Djokic B. 1991. Lisch nodules in neurofibromatosis type 1. *N Engl J Med* 324:1264-6
35. Stevenson DA, Moyer-Mileur LJ, Murray M, Slater H, Sheng X, et al. 2007. Bone mineral density in children and adolescents with neurofibromatosis type 1. *J Pediatr* 150:83-8

36. Stevenson DA, Zhou H, Ashrafi S, Messiaen LM, Carey JC, et al. 2006. Double inactivation of NF1 in tibial pseudarthrosis. *Am J Hum Genet* 79:143-8
37. Finley JL, Dabbs DJ. 1988. Renal vascular smooth muscle proliferation in neurofibromatosis. *Hum Pathol* 19:107-10
38. Han M, Criado E. 2005. Renal artery stenosis and aneurysms associated with neurofibromatosis. *J Vasc Surg* 41:539-43
39. Tan RM, Chng SM, Seow WT, Wong J, Lim CC. 2008. 'Moya' than meets the eye: neurofibromatosis type 1 associated with Moyamoya syndrome. *Singapore Med J* 49:e107-9
40. Baba T, Houkin K, Kuroda S. 2008. Novel epidemiological features of moyamoya disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 79:900-4
41. Ghosh PS, Rothner AD, Emch TM, Friedman NR, Moodley M. 2013. Cerebral vasculopathy in children with neurofibromatosis type 1. *J Child Neurol* 28:95-101
42. Sanchez Marco SB, Lopez Pison J, Calvo Escribano C, Gonzalez Viejo I, Miramar Gallart MD, Samper Villagrasa P. 2019. Neurological manifestations of neurofibromatosis type 1: our experience. *Neurologia (Engl Ed)*
43. Cnossen MH, Moons KG, Garssen MP, Pasmans NM, de Goede-Bolder A, et al. 1998. Minor disease features in neurofibromatosis type 1 (NF1) and their possible value in diagnosis of NF1 in children < or = 6 years and clinically suspected of having NF1. Neurofibromatosis team of Sophia Children's Hospital. *J Med Genet* 35:624-7
44. Morris SM, Monroe CL, Gutmann DH. 2016. Macrocephaly Is Not a Predictor of Optic Pathway Glioma Development or Treatment in Neurofibromatosis Type 1. *J Child Neurol* 31:1540-5
45. Schindera C, Wingeier K, Goeggel Simonetti B, Diepold M, Nauer CB, et al. 2011. Macrocephaly in neurofibromatosis type 1: a sign post for optic pathway gliomas? *Childs Nerv Syst* 27:2107-11
46. Dincer A, Yener U, Ozek MM. 2011. Hydrocephalus in patients with neurofibromatosis type 1: MR imaging findings and the outcome of endoscopic third ventriculostomy. *AJNR Am J Neuroradiol* 32:643-6
47. Kraut MA, Gerring JP, Cooper KL, Thompson RE, Denckla MB, Kaufmann WE. 2004. Longitudinal evolution of unidentified bright objects in children with neurofibromatosis-1. *Am J Med Genet A* 129A:113-9
48. Lopes Ferraz Filho JR, Munis MP, Soares Souza A, Sanches RA, Goloni-Bertollo EM, Pavarino-Bertelli EC. 2008. Unidentified bright objects on brain MRI in children as a diagnostic criterion for neurofibromatosis type 1. *Pediatr Radiol* 38:305-10
49. Griffith JL, Morris SM, Mahdi J, Goyal MS, Hershey T, Gutmann DH. 2018. Increased prevalence of brain tumors classified as T2 hyperintensities in neurofibromatosis 1. *Neurol Clin Pract* 8:283-91
50. Chabernaude C, Sirinelli D, Barbier C, Cottier JP, Sembely C, et al. 2009. Thalamo-striatal T2-weighted hyperintensities (unidentified bright objects) correlate with cognitive impairments in neurofibromatosis type 1 during childhood. *Dev Neuropsychol* 34:736-48
51. Parmeggiani A, Boiani F, Capponi S, Duca M, Angotti M, et al. 2018. Neuropsychological profile in Italian children with neurofibromatosis type 1 (NF1) and their relationships with neuroradiological data: Preliminary results. *Eur J Paediatr Neurol* 22:822-30
52. Baudou E, Nemmi F, Biotteau M, Maziero S, Assaiante C, et al. 2020. Are morphological and structural MRI characteristics related to specific cognitive impairments in neurofibromatosis type 1 (NF1) children? *Eur J Paediatr Neurol* 28:89-100

53. Lorenzo J, Barton B, Acosta MT, North K. 2011. Mental, motor, and language development of toddlers with neurofibromatosis type 1. *J Pediatr* 158:660-5
54. Rietman AB, Oostenbrink R, Bongers S, Gaukema E, van Abeelen S, et al. 2017. Motor problems in children with neurofibromatosis type 1. *J Neurodev Disord* 9:19
55. Lehtonen A, Garg S, Roberts SA, Trump D, Evans DG, et al. 2015. Cognition in children with neurofibromatosis type 1: data from a population-based study. *Dev Med Child Neurol* 57:645-51
56. Hyman SL, Shores A, North KN. 2005. The nature and frequency of cognitive deficits in children with neurofibromatosis type 1. *Neurology* 65:1037-44
57. Roy A, Roulin JL, Gras-Le Guen C, Corbat ML, Barbarot S. 2021. Executive functions and quality of life in children with neurofibromatosis type 1. *Orphanet J Rare Dis* 16:420
58. Lidzba K, Granstrom S, Lindenau J, Mautner VF. 2012. The adverse influence of attention-deficit disorder with or without hyperactivity on cognition in neurofibromatosis type 1. *Dev Med Child Neurol* 54:892-7
59. Diggs-Andrews KA, Tokuda K, Izumi Y, Zorumski CF, Wozniak DF, Gutmann DH. 2013. Dopamine deficiency underlies learning deficits in neurofibromatosis-1 mice. *Ann Neurol* 73:309-15
60. Morris SM, Acosta MT, Garg S, Green J, Huson S, et al. 2016. Disease Burden and Symptom Structure of Autism in Neurofibromatosis Type 1: A Study of the International NF1-ASD Consortium Team (INFACT). *JAMA Psychiatry* 73:1276-84
61. Ferner RE, Hughes RA, Hall SM, Upadhyaya M, Johnson MR. 2004. Neurofibromatous neuropathy in neurofibromatosis 1 (NF1). *J Med Genet* 41:837-41
62. Alkindy A, Chuzhanova N, Kini U, Cooper DN, Upadhyaya M. 2012. Genotype-phenotype associations in neurofibromatosis type 1 (NF1): an increased risk of tumor complications in patients with NF1 splice-site mutations? *Hum Genomics* 6:12
63. Walker L, Thompson D, Easton D, Ponder B, Ponder M, et al. 2006. A prospective study of neurofibromatosis type 1 cancer incidence in the UK. *Br J Cancer* 95:233-8
64. Giugliano T, Santoro C, Torella A, Del Vecchio Blanco F, Grandone A, et al. 2019. Clinical and Genetic Findings in Children with Neurofibromatosis Type 1, Legius Syndrome, and Other Related Neurocutaneous Disorders. *Genes (Basel)* 10
65. Evans DG, Baser ME, McGaughan J, Sharif S, Howard E, Moran A. 2002. Malignant peripheral nerve sheath tumours in neurofibromatosis 1. *J Med Genet* 39:311-4
66. Wu J, Williams JP, Rizvi TA, Kordich JJ, Witte D, et al. 2008. Plexiform and dermal neurofibromas and pigmentation are caused by Nf1 loss in desert hedgehog-expressing cells. *Cancer Cell* 13:105-16
67. Nguyen R, Kluwe L, Fuensterer C, Kentsch M, Friedrich RE, Mautner VF. 2011. Plexiform neurofibromas in children with neurofibromatosis type 1: frequency and associated clinical deficits. *J Pediatr* 159:652-5 e2
68. Mautner VF, Asuagbor FA, Dombi E, Funsterer C, Kluwe L, et al. 2008. Assessment of benign tumor burden by whole-body MRI in patients with neurofibromatosis 1. *Neuro Oncol* 10:593-8
69. Tucker T, Wolkenstein P, Revuz J, Zeller J, Friedman JM. 2005. Association between benign and malignant peripheral nerve sheath tumors in NF1. *Neurology* 65:205-11
70. Fisher MJ, Jones DTW, Li Y, Guo X, Sonawane PS, et al. 2021. Integrated molecular and clinical analysis of low-grade gliomas in children with neurofibromatosis type 1 (NF1). *Acta Neuropathol* 141:605-17
71. Freret ME, Gutmann DH. 2019. Insights into optic pathway glioma vision loss from mouse models of neurofibromatosis type 1. *J Neurosci Res* 97:45-56
72. Ullrich NJ, Raja AI, Irons MB, Kieran MW, Goumnerova L. 2007. Brainstem lesions in neurofibromatosis type 1. *Neurosurgery* 61:762-6; discussion 6-7

73. Angelova-Toshkina D, Holzapfel J, Huber S, Schimmel M, Wieczorek D, et al. 2022. Neurofibromatosis type 1: A comparison of the 1997 NIH and the 2021 revised diagnostic criteria in 75 children and adolescents. *Genet Med* 24:1978-85
74. Angelova-Toshkina D, Decker JA, Traunwieser T, Holzapfel J, Bette S, et al. 2023. Comprehensive neurological evaluation of a cohort of patients with neurofibromatosis type 1 from a single institution. *Eur J Paediatr Neurol* 43:52-61
75. Suerink M, Ripperger T, Messiaen L, Menko FH, Bourdeaut F, et al. 2019. Constitutional mismatch repair deficiency as a differential diagnosis of neurofibromatosis type 1: consensus guidelines for testing a child without malignancy. *J Med Genet* 56:53-62
76. Bettgowda C, Upadhayaya M, Evans DG, Kim A, Mathios D, et al. 2021. Genotype-Phenotype Correlations in Neurofibromatosis and Their Potential Clinical Use. *Neurology* 97:S91-S8
77. Rosser TL, Vezina G, Packer RJ. 2005. Cerebrovascular abnormalities in a population of children with neurofibromatosis type 1. *Neurology* 64:553-5
78. Rea D, Brandsema JF, Armstrong D, Parkin PC, deVeber G, et al. 2009. Cerebral arteriopathy in children with neurofibromatosis type 1. *Pediatrics* 124:e476-83
79. Cairns AG, North KN. 2008. Cerebrovascular dysplasia in neurofibromatosis type 1. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 79:1165-70
80. Ullrich NJ, Robertson R, Kinnamon DD, Scott RM, Kieran MW, et al. 2007. Moyamoya following cranial irradiation for primary brain tumors in children. *Neurology* 68:932-8
81. Schutt CA, Sargent E, Kabolizadeh P, Grills IS, Jacob J. 2019. Proton beam radiation-induced glioblastoma multiforme. *J Neurosurg Sci* 63:609-10
82. Mertens R, Graupera M, Gerhardt H, Bersano A, Tournier-Lasserre E, et al. 2022. The Genetic Basis of Moyamoya Disease. *Transl Stroke Res* 13:25-45
83. Soucy EA, Gao F, Gutmann DH, Dunn CM. 2012. Developmental delays in children with neurofibromatosis type 1. *J Child Neurol* 27:641-4
84. Johnson BA, MacWilliams BA, Carey JC, Viskochil DH, D'Astous JL, Stevenson DA. 2010. Motor proficiency in children with neurofibromatosis type 1. *Pediatr Phys Ther* 22:344-8
85. Garg S, Green J, Leadbitter K, Emsley R, Lehtonen A, et al. 2013. Neurofibromatosis type 1 and autism spectrum disorder. *Pediatrics* 132:e1642-8
86. Walsh KS, Velez JI, Kardel PG, Imas DM, Muenke M, et al. 2013. Symptomatology of autism spectrum disorder in a population with neurofibromatosis type 1. *Dev Med Child Neurol* 55:131-8
87. Schwetye KE, Gutmann DH. 2014. Cognitive and behavioral problems in children with neurofibromatosis type 1: challenges and future directions. *Expert Rev Neurother* 14:1139-52
88. Krab LC, Oostenbrink R, de Goede-Bolder A, Aarsen FK, Elgersma Y, Moll HA. 2009. Health-related quality of life in children with neurofibromatosis type 1: contribution of demographic factors, disease-related factors, and behavior. *J Pediatr* 154:420-5, 5 e1
89. North K, Hyman S, Barton B. 2002. Cognitive deficits in neurofibromatosis 1. *J Child Neurol* 17:605-12; discussion 27-9, 46-51
90. Pride N, Payne JM, Webster R, Shores EA, Rae C, North KN. 2010. Corpus callosum morphology and its relationship to cognitive function in neurofibromatosis type 1. *J Child Neurol* 25:834-41
91. Traunwieser T, Kandels D, Pauls F, Pietsch T, Warmuth-Metz M, et al. 2020. Long-term cognitive deficits in pediatric low-grade glioma (LGG) survivors reflect pretreatment conditions-report from the German LGG studies. *Neurooncol Adv* 2:vdad094

92. Armstrong GT, Conklin HM, Huang S, Srivastava D, Sanford R, et al. 2011. Survival and long-term health and cognitive outcomes after low-grade glioma. *Neuro Oncol* 13:223-34
93. Barba C, Jacques T, Kahane P, Polster T, Isnard J, et al. 2013. Epilepsy surgery in Neurofibromatosis Type 1. *Epilepsy Res* 105:384-95
94. Kulkantrakorn K, Geller TJ. 1998. Seizures in neurofibromatosis 1. *Pediatr Neurol* 19:347-50
95. Gales J, Prayson RA. 2017. Hippocampal sclerosis and associated focal cortical dysplasia-related epilepsy in neurofibromatosis type I. *J Clin Neurosci* 37:15-9
96. Pecoraro A, Arehart E, Gallentine W, Radtke R, Smith E, et al. 2017. Epilepsy in neurofibromatosis type 1. *Epilepsy Behav* 73:137-41
97. Liu CH, Lin YW, Tang NY, Liu HJ, Hsieh CL. 2012. Neuroprotective Effect of Uncaria rhynchophylla in Kainic Acid-Induced Epileptic Seizures by Modulating Hippocampal Mossy Fiber Sprouting, Neuron Survival, Astrocyte Proliferation, and S100B Expression. *Evid Based Complement Alternat Med* 2012:194790
98. Payne JM, Pickering T, Porter M, Oates EC, Walia N, et al. 2014. Longitudinal assessment of cognition and T2-hyperintensities in NF1: an 18-year study. *Am J Med Genet A* 164A:661-5
99. Feldmann R, Schuierer G, Wessel A, Neveling N, Weglage J. 2010. Development of MRI T2 hyperintensities and cognitive functioning in patients with neurofibromatosis type 1. *Acta Paediatr* 99:1657-60
100. Moore BD, Slopis JM, Schomer D, Jackson EF, Levy BM. 1996. Neuropsychological significance of areas of high signal intensity on brain MRIs of children with neurofibromatosis. *Neurology* 46:1660-8
101. Roy A, Barbarot S, Charbonnier V, Gayet-Delacroix M, Stalder JF, et al. 2015. Examining the frontal subcortical brain vulnerability hypothesis in children with neurofibromatosis type 1: Are T2-weighted hyperintensities related to executive dysfunction? *Neuropsychology* 29:473-84
102. Eby NS, Griffith JL, Gutmann DH, Morris SM. 2019. Adaptive functioning in children with neurofibromatosis type 1: relationship to cognition, behavior, and magnetic resonance imaging. *Dev Med Child Neurol* 61:972-8
103. Ertan G, Zan E, Yousem DM, Ceritoglu C, Tekes A, et al. 2014. Diffusion tensor imaging of neurofibromatosis bright objects in children with neurofibromatosis type 1. *Neuroradiol J* 27:616-26
104. Gnekow AK, Kandels D, Pietsch T, Bison B, Warmuth-Metz M, et al. 2021. Doubling Recruitment of Pediatric Low-grade Glioma within Two Decades does not change Outcome - Report from the German LGG Studies. *Klin Padiatr* 233:107-22
105. Hernaiz Driever P, von Hornstein S, Pietsch T, Kortmann R, Warmuth-Metz M, et al. 2010. Natural history and management of low-grade glioma in NF-1 children. *J Neurooncol* 100:199-207
106. Lohkamp LN, Parkin P, Puran A, Bartels UK, Bouffet E, et al. 2022. Optic Pathway Glioma in Children with Neurofibromatosis Type 1: A Multidisciplinary Entity, Posing Dilemmas in Diagnosis and Management Multidisciplinary Management of Optic Pathway Glioma in Children with Neurofibromatosis Type 1. *Front Surg* 9:886697
107. Taylor T, Jaspan T, Milano G, Gregson R, Parker T, et al. 2008. Radiological classification of optic pathway gliomas: experience of a modified functional classification system. *Br J Radiol* 81:761-6
108. Azizi AA, Walker DA, Liu JF, Sehested A, Jaspan T, et al. 2021. NF1 optic pathway glioma: analyzing risk factors for visual outcome and indications to treat. *Neuro Oncol* 23:100-11

109. Evans DGR, Salvador H, Chang VY, Erez A, Voss SD, et al. 2017. Cancer and Central Nervous System Tumor Surveillance in Pediatric Neurofibromatosis 1. *Clin Cancer Res* 23:e46-e53
110. Cassiman C, Casteels I, Jacob J, Plasschaert E, Brems H, et al. 2017. Choroidal abnormalities in cafe-au-lait syndromes: a new differential diagnostic tool? *Clin Genet* 91:529-35
111. Vagge A, Camicione P, Capris C, Sburlati C, Panarello S, et al. 2015. Choroidal abnormalities in neurofibromatosis type 1 detected by near-infrared reflectance imaging in paediatric population. *Acta Ophthalmol* 93:e667-71

Appendix

I. Abkürzungsverzeichnis

ADHS	Aufmerksamkeits-Defizit-Hyperaktivitäts-Syndrom
ASS	Autismus-Spektrum-Störung
CALM	Café-au-lait Makulae
CMMRD	Constitutional mismatch repair deficiency
FASI	Focal areas of signal intensity
LGG	Low-grade Gliom
LS.....	Legius Syndrom
MPNST	Maligner peripherer Nervenscheidentumor
NF1	Neurofibromatose Typ 1
NPT	Neuropsychologische Testung
OPG.....	Sehbahngliom

II. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Chromosom 17, NF1-Gen und Neurofibromin	8
---	---

III. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Diagnostische Kriterien für NF1, National Institutes of Health (≥ 2 der folgenden Merkmale müssen erfüllt sein).....	9
Tabelle 2: Überarbeitete NF1-Diagnostikkriterien aus dem Jahr 2021.....	10

IV. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denjenigen bedanken, die mich während der Anfertigung dieser Promotion unterstützt und motiviert haben.

Zuerst gebührt mein Dank Prof. Dr. Dr. med. Michael Frühwald, der meine Promotion betreut und begutachtet hat. Ein besonderer Dank geht an PrivDoz Dr. med. Michaela Kuhlen, die mir die Möglichkeit gegeben hat, ein neues Projekt mit großer Zukunft mit ihr anzufangen, an mich geglaubt hat und mich als Betreuerin stets motiviert und gefördert hat und ohne deren Hilfe ich diese Arbeit nicht zu Ende gebracht hätte. Für die hilfreichen Anregungen und die konstruktive Kritik bei der Erstellung dieser Arbeit möchte ich mich herzlich bedanken.

Ich möchte mich auch bei meinem Ehemann bedanken, der immer ein offenes Ohr für mich hatte, mir Mut, Motivation, Zeit und Raum gegeben hat, diese Promotion abzuschließen. Ein besonderes Dankschön gilt auch meinem Sohn, der mir gezeigt hat, wie viel Kraft und Energie in mir steckt.

Abschließend bedanke ich mich bei meinen Eltern – dafür, dass sie immer an mich geglaubt haben, mich motiviert haben und mich bis zum Schluss ermutigt haben, meine Träume nicht aufzugeben.

V. Eigene Veröffentlichungen und Vorstellung der Ergebnisse auf medizinischen Fachtagungen und Kongressen

Tagungsbeiträge:

Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kinder- und Jugendmedizin

06.10. – 09.10.2021, Berlin

Towards personalized cancer surveillance in children, adolescents, and young adults with Neurofibromatosis type 1

Posterbeitrag

The 20th International Symposium on Pediatric Neuro-Oncology

12.06. – 15.06.2022, Hamburg

Neurological manifestations in children and adolescents with NF1 –

Implications for management and surveillance

Posterbeitrag

Publikationen

- 1) **Angelova-Toshkina D**, Holzapfel J, Huber Schimmel M, Wiczorek , Gnekow AK, Frühwald MC, Kuhlen M.
Neurofibromatosis type 1: A comparison of the 1997 NIH and the 2021 revised diagnostic criteria in 75 children and adolescents. Genet Med. 2022 Sep;24(9):1978-1985.
- 2) **Angelova-Toshkina D**, Decker JA, Traunwieser T, Holzapfel J, Bette S, Huber S, Schimmel M, Vollert K, Bison B, Kröncke T, Bramswig NC, Wiczorek D, Gnekow AK, Frühwald MC, Kuhlen M.
Comprehensive neurological evaluation of a cohort of patients with neurofibromatosis type 1 from a single institution. Eur J PAediatr Neurol. 2023 Mar 5;43:52-61.
- 3) Tietze JK, **Angelova D**, Heppt MV, Ruzicka T, Berking C.
Low baseline levels of NK cells may predict a positive response to ipilimumab in melanoma therapy. Exp Dermatol. 2017 Jul;26(7):622-629.

- 4) Tietze JK, **Angelova D**, Heppt MV, Reinholz M, Murphy WJ, Spannagl M, Ruzicka T, Berking C.
The proportion of circulating CD45RO+CD8+ memory T cells is correlated with clinical response in melanoma patients treated with ipilimumab. Eur J Cancer. 2017 Apr;75:268-279.

- 5) Schorling DC, Kölbel H, Hentschel A, Pechmann A, Meyer N, Wirth B, Rombo R; **SMArtCARE consortium**; Sickmann A, Kirschner J, Schara-Schmidt U, Lochmüller H, Roos A.
Cathepsin D as biomarker in cerebrospinal fluid of nusinersen-treated patients with spinal muscular atrophy. Eur J Neurol. 2022 Jul;29(7):2084-2096.

- 6) Pechmann A, Behrens M, Dörnbrack K, Tassoni A, Stein S, Vogt S, Zöller D, Bernert G, Hagenacker T, Schara-Schmidt U, Schwersenz I, Walter MC, Baumann M, Baumgartner M, Deschauer M, Eisenkölbl A, Flotats-Bastardas M, Hahn A, Horber V, Husain RA, Illsinger S, Johannsen J, Köhler C, Kölbel H, Müller M, von Moers A, Schlachter K, Schreiber G, Schwartz O, Smitka M, Steiner E, Stögmänn E, Trollmann R, Vill K, Weiß C, Wiegand G, Ziegler A, Lochmüller H, Kirschner J; **SMArtCARE study group**.
Effect of nusinersen on motor, respiratory and bulbar function in early-onset spinal muscular atrophy. Brain. 2023 Feb 13;146(2):668-677.

- 7) Pechmann A, Behrens M, Dörnbrack K, Tassoni A, Wenzel F, Stein S, Vogt S, Zöller D, Bernert G, Hagenacker T, Schara-Schmidt U, Walter MC, Bertsche A, Vill K, Baumann M, Baumgartner M, Cordts I, Eisenkölbl A, Flotats-Bastardas M, Friese J, Günther R, Hahn A, Horber V, Husain RA, Illsinger S, Jahnel J, Johannsen J, Köhler C, Kölbel H, Müller M, von Moers A, Schwerin-Nagel A, Reihle C, Schlachter K, Schreiber G, Schwartz O, Smitka M, Steiner E, Trollmann R, Weiler M, Weiß C, Wiegand G, Wilichowski E, Ziegler A, Lochmüller H, Kirschner J; **SMArtCARE study group**.
Improved upper limb function in non-ambulant children with SMA type 2 and 3 during nusinersen treatment: a prospective 3-years SMArtCARE registry study. Orphanet J Rare Dis. 2022 Oct 23;17(1):384.



BRIEF REPORT

Neurofibromatosis type 1: A comparison of the 1997 NIH and the 2021 revised diagnostic criteria in 75 children and adolescents



Daniela Angelova-Toshkina¹, Johannes Holzapfel¹, Simon Huber¹, Mareike Schimmel¹, Dagmar Wieczorek², Astrid K. Gnekow¹, Michael C. Frühwald¹, Michaela Kuhlen^{1,*} 

¹*Pediatrics and Adolescent Medicine, Faculty of Medicine, University of Augsburg, Augsburg, Germany;* ²*Institute of Human Genetics, Medical Faculty and University Hospital Düsseldorf, Heinrich-Heine-University Düsseldorf, Düsseldorf, Germany*

ARTICLE INFO

Article history:

Received 10 February 2022

Received in revised form

19 May 2022

Accepted 23 May 2022

Available online 17 June 2022

Keywords:

Constitutional mismatch repair deficiency

Legius syndrome

National Institutes of Health diagnostic criteria

Neurofibromatosis type 1

Revised diagnostic criteria

ABSTRACT

Purpose: Examining a cohort of patients suspicious of neurofibromatosis type 1 (NF1) we compared the revised diagnostic criteria with the previous National Institutes of Health (NIH) diagnostic criteria. We asked whether the refinement improved distinguishing between NF1, Legius syndrome, and constitutional mismatch repair deficiency (CMMRD).

Methods: A database search in the hospital information system of the University Children's Hospital Augsburg between 2017 and 2020 ascertained patients with International Classification of Diseases-10 code Q85.0; their clinical phenotype was evaluated by retrospective chart review.

Results: A total of 75 patients were identified (median age 11.0 years [range 1.1–22.6 years]; 35 female). At first suspicion of NF1, 44 patients met the NIH criteria and 56 met the revised diagnostic criteria. In total, 12 patients were diagnosed with NF1 after performing molecular genetic testing. In 31 patients, only pigmentary findings were present, whereas nonpigmentary NF1 manifestations presented with time in 9 patients. In 1 patient a heterozygous variant of uncertain significance was identified in *SPRED1*. Requirements for CMMRD testing were fulfilled in another patient. A total of 3 patients presented with segmental clinical findings. Three additional patients did not meet the NIH criteria, 1 of them presented with 1 additional feature of CMMRD without fulfilling requirements for testing.

Conclusion: In our pediatric cohort, the revised diagnostic criteria discovered more patients with proven NF1 than the NIH criteria.

© 2022 American College of Medical Genetics and Genomics.

Published by Elsevier Inc. All rights reserved.

Introduction

Neurofibromatosis type 1 (NF1; OMIM 613113) is a complex, genetic multisystem condition manifesting in

childhood and adolescence, affecting approximately 1 in 3000 live births worldwide.^{1,2} Penetrance is virtually complete after adolescence.¹ NF1 is associated with a wide range of clinical signs and a significantly increased risk of

*Correspondence and requests for materials should be addressed to Michaela Kuhlen, Swabian Children's Cancer Center, Pediatrics and Adolescent Medicine, University Medical Center Augsburg, Stenglinstr. 2, 86156 Augsburg, Germany. E-mail address: michaela.kuhlen@uk-augsburg.de

Table 1 Overview of diagnostic criteria for neurofibromatosis type 1 according to NIH consensus statement 1987 and revised diagnostic criteria, diagnostic criteria for Legius syndrome and criteria for CMMRD counseling and testing

Diagnostic Criteria for Neurofibromatosis Type 1—NIH Consensus Statement 1987	Revised Diagnostic Criteria for Neurofibromatosis Type 1 (Legius et al) ⁹
The diagnostic criteria for NF-1 are met in an individual if 2 or more of the following are found. • ≥6 café-au-lait macules >5 mm in greatest diameter in prepubertal individuals and >15 mm in greatest diameter in postpubertal individuals • Freckling in the axillary or inguinal region • ≥2 neurofibromas of any type or 1 plexiform neurofibroma • Optic pathway glioma • ≥2 Lisch nodules (iris hamartomas) • A distinctive osseous lesion such as sphenoid dysplasia or thinning of long bone cortex with or without pseudarthrosis • A first-degree relative (parent, sibling, or offspring) with NF-1 by the earlier mentioned criteria	1. The diagnostic criteria for NF1 are met in an individual, who does not have a parent diagnosed with NF1, if 2 or more of the following are present • Freckling in the axillary or inguinal region • At least 1 of the 2 pigmentary findings (café-au-lait macules or freckling) should be bilateral • ≥2 iris Lisch nodules identified using slitlamp examination or 2 or more choroidal abnormalities—defined as bright, patchy nodules imaged using optical coherence tomography/near-infrared reflectance imaging • A distinctive osseous lesion such as sphenoid dysplasia, anterolateral bowing of the tibia, or pseudarthrosis of a long bone; sphenoid wing dysplasia is not a separate criterion in case of an ipsilateral orbital plexiform neurofibroma • A heterozygous pathogenic <i>NF1</i> variant with a variant allele fraction of 50% in apparently normal tissue such as white blood cells 2. A child of a parent, who meets the diagnostic criteria specified in 1, merits a diagnosis of NF1 if 1 or more of the criteria in 1 are present

CMMRD, constitutional mismatch repair deficiency; *NF1*, Neurofibromatosis type 1; *NIH*, National Institutes of Health.

malignancy. Tumor surveillance is recommended in affected children and adolescents starting at birth and/or NF1 diagnosis.

The National Institutes of Health (NIH) Consensus Conference on Neurofibromatosis established diagnostic criteria in 1987,³ which were reviewed and confirmed in

1997⁴ (Table 1 and Box 1). The NIH criteria include the most frequent disease manifestations (café-au-lait macules [CALMs], freckling, neurofibromas, and Lisch nodules), specific disease complications (optic pathway glioma [OPG], sphenoid dysplasia, cortical thinning of long bones with/without pseudarthrosis), and a first-degree relative with

Box 1. Criteria for CMMRD counseling and testing in a child suspected to have NF1/Legius syndrome without malignancy (Suerink et al)¹⁰

- Patient fulfills criteria for CMMRD testing when all 3 prerequisites are fulfilled and at least 1 additional feature (either in the family or in the patient) is present
- Prerequisites fulfilled
- Suspicion of NF1 due to the presence of at least 1 diagnostic NF1 feature (according to the NIH consensus statement 1987), including ≥ 2 hyperpigmented skin patches reminiscent of café-au-lait macules
 - No *NF1* and *SPRED1* germline mutations detected using comprehensive and highly sensitive mutation analysis protocols
 - Absence of diagnostic NF1 sign(s) in both parents
- Additional features in the family
- Consanguineous parents
 - Sibling with diagnostic NF1 sign(s)
 - A (deceased) sibling with any type of childhood malignancy
 - Genetic diagnosis of Lynch syndrome in 1 or both of the parental families
 - Carcinoma(s) from the Lynch syndrome spectrum (colorectal, endometrial, ovarian, gastric, small bowel, bile duct or gallbladder, pancreatic, urothelial cancer) before the age of 60 years in first-degree or second-degree relative
- Additional features in the patient
- Atypical café-au-lait-macules (irregular borders and/or pigmentation)
 - Hypopigmented skin patches
 - One or more pilomatricoma(s) in the patient
 - Brain MRI in the patient: multiple developmental vascular abnormalities in separate regions of the brain
 - Agenesis of the corpus callosum
 - Non-therapy-induced cavernoma

NF1. NF1 is generally accepted as a cancer predisposition syndrome. A number of conditions phenotypically overlapping NF1 have been recognized, among them are various RASopathies such as Legius syndrome and constitutional mismatch repair deficiency (CMMRD). These conditions differ in their natural history and their risk for tumor development. Thus, the precise distinction between these conditions is important for predicting the individual clinical course and determining the need and extent of tumor surveillance. For patients with Legius syndrome, no surveillance is recommended owing to the low likelihood of childhood cancer.⁵ In contrast, patients with CMMRD may develop a large variety of neoplasms in childhood or adolescence and require a comprehensive surveillance regimen.⁶ However, both conditions may be clinically diagnosed as NF1 using the NIH criteria.^{7,8}

An international panel of neurofibromatosis experts published revised diagnostic criteria for NF1 and Legius syndrome in 2021 incorporating recent advances in clinical phenotyping and genetic testing.⁹ (Table 1 and Box 1) We evaluated these proposed revised diagnostic criteria in children and adolescents who were referred to undergo evaluation regarding NF1 in a tertiary referral hospital (referred to as pediatric cohort). We asked whether the use of the proposed revised diagnostic criteria improved the distinction between NF1, Legius syndrome, and CMMRD.

Materials and Methods

We performed a database search in the hospital information system (ORBIS v. 08.043.302.11210 DACHL, Agfa Healthcare) of the University Children's Hospital Augsburg with International Classification of Diseases-10 code Q85.0 (phakomatoses, not elsewhere classified). Results were checked for plausibility reviewing text entries (NF1, Legius syndrome, CALM, OPG, Neurofibroma, Lisch nodule). Patients aged <18 years at first contact and in inpatient and/or outpatient care between January 1, 2017 and December 31, 2020 were included. The study was approved by the responsible ethics committee of the Ludwig Maximilian University of Munich (approval number, 21-1103), Germany.

We evaluated the clinical phenotypes through retrospective chart review. Clinical signs were classified according to the NIH diagnostic criteria for NF1³ and the revised diagnostic criteria for NF1.⁹ If applicable, alternative diagnostic criteria for Legius syndrome⁹ and CMMRD testing (<https://www.i-med.ac.at/tumorgenetik-erbliche-tumoren/cmmrd.html>) were reviewed (Table 1 and Box 1). We analyzed the diagnostic criteria for NF1 according to those clinical signs documented at the first visit or reported age (referred to as first suspicion of NF1) and at last follow up. An item was considered not present for an individual patient if no information was provided in the patient's chart and/or if magnetic resonance imaging (MRI) and/or ophthalmologic evaluation was not performed. Follow up ended on June 30, 2021.

Results

A total of 75 children and adolescents with suspected or clinically diagnosed NF1 were identified at the University Children's Hospital Augsburg with a median age of 11.0 years at last follow up (range 1.1-22.6 years) (Supplemental Table 1). Sex ratio showed a small male predominance (40 [53.3%] males; 35 [46.7%] females).

At first suspicion (Table 2 and Supplemental Figure 1), 44 of 75 (58.7%) patients met the NIH criteria at a median age of 4.1 years (range 0.0-13.6 years). In contrast, 56 of 75 (74.7%) patients would have been diagnosed with NF1 on the basis of the revised diagnostic criteria at a median age of 3.5 years (range 0.0-13.6 years) (Fisher exact test: $P = .0562$). At last follow up, 53 (70.7%) patients met the NIH criteria and 57 (76.0%) patients met the revised diagnostic criteria ($P = .58$). In total, 9 patients who had only pigmentary changes developed additional nonpigmentary NF1 signs (neurofibromas and/or OPG). Of these patients, 3 fulfilled the revised criteria before the development of nonpigmentary signs owing to the identification of *NF1* pathogenic variants. In total, 4 patients who had only CALMs at first suspicion developed skinfold freckling at last follow up; all of these patients fulfilled the revised criteria owing to the presence of *NF1* pathogenic variants.

Next, we took a closer look at the distinguishing factors between the 12 patients who fulfilled the revised criteria but not the NIH criteria at their first visit. We found that a pathogenic *NF1* variant was identified in 11 of the 12 patients with CALMs and in 1 clinically unsuspecting patient with a parent diagnosed with NF1. The median age of those patients was 1.9 years (range 0.0-7.2 years). Subsequently, 8 of those 12 patients met the NIH criteria. However, the remaining 4 patients (presenting with a variable number and size of CALMs only) still did not meet the NIH criteria at last follow up (median age 4.9 years; range 1.6-7.9 years).

At last follow up (Supplemental Table 1), 6 or more CALMs were detected in 69 (92.0%) patients and freckling in the axillary or inguinal region in 28 (37.3%) and 21 (28.0%) patients, respectively. Two or more neurofibromas of any type were diagnosed in 27 (36.0%) patients, 22 had at least 1 plexiform neurofibroma. In 43 patients, brain MRI with or without contrast was performed for various reasons (eg, visual disorder, screening), 18 of them were diagnosed with OPG. A total of 5 (6.7%) patients were diagnosed with Lisch nodules and 2 (2.7%) patients with sphenoid dysplasia. In 20 of 65 (30.8%) patients with documented family history, a first-degree relative was diagnosed with NF1 (the father in 9 patients, the mother in 11 patients). Of these 20 patients, 6 had affected siblings: 1 sibling was diagnosed with NF1, another with Lisch nodules, and 4 siblings presented with CALMs only. Genetic testing was performed in 31 of 75 (41.3%) patients; in 26 of 31 patients (83.9%), a pathogenic *NF1* variant was identified.

Further analysis of the data collected during the last follow up revealed that 48 of 75 (64.0%) patients met both

Table 2 Revised and NIH diagnostic criteria in 75 children and adolescents suspicious of neurofibromatosis type 1 at first suspicion of NF1

Pat Nr	Age at First Suspicion	Sex	Neurofibromas					Parent Fulfilling	Lisch	Choroidal	Sphenoid Dysplasia	Pseudarthrosis	Anterolateral Bowing of the Tibia	Heterozygous		
			CALM		≥2 of	Neurofibromas	NF1	Nodules	Abnormalities	Pathogenic				Revised	NIH	
			≥6	Freckling	OPG	Any Type	≥1 Plexiform	Criteria	≥2	≥2				NF1 Variant	Criteria Fulfilled	Criteria Fulfilled
2021 revised and 1997 NIH diagnostic criteria fulfilled (patients with pigmentary findings only excluded)																
16	3.5	F	+	+	+	—	—	+	—	Not done	—	—	Not done	+	+	+
3	5.3	F	+	+	—	—	—	+	—	Not done	—	—	Not done	+	+	+
50	5.0	M	+	—	—	—	—	+	+	Not done	—	—	Not done	+	+	+
27	0.4	F	+	—	—	—	—	+	—	Not done	—	—	Not done	+	+	+
31	0.2	F	+	—	—	—	—	+	—	Not done	—	—	Not done	+	+	+
12	0.0	F	+	—	—	—	—	+	—	Not done	—	—	Not done	+	+	+
68	Unknown	M	+	—	—	—	—	+	—	Not done	—	—	Not done	+	+	+
71	Unknown	M	+	—	—	—	—	+	—	Not done	—	—	Not done	+	+	+
73	Unknown	M	+	—	—	—	—	+	—	Not done	—	—	Not done	+	+	+
66	Unknown	M	+	—	—	—	—	+	—	Not done	—	—	Not done	+	+	+
22	1.1	F	+	+	—	+	—	—	—	Not done	—	—	Not done	+	+	+
11	13.1	M	+	—	—	+	—	—	—	Not done	—	—	Not done	+	+	+
60	5.1	F	+	+	—	—	—	+	—	Not done	—	—	Not done	Not done	+	+
41	Unknown	F	+	—	—	—	+	+	—	Not done	—	—	Not done	Not done	+	+
1	0,4	M	+	—	—	—	—	+	—	Not done	—	—	Not done	Not done	+	+
15	Unknown	M	+	—	—	—	—	+	—	Not done	—	—	Not done	Not done	+	+
18	0.3	M	+	—	—	—	—	+	—	Not done	—	—	Not done	Not done	+	+
20	Unknown	F	+	—	—	—	—	+	—	Not done	—	—	Not done	Not done	+	+
36	0.4	F	+	—	—	—	—	+	—	Not done	—	—	Not done	Not done	+	+
40	Unknown	F	+	—	—	—	—	+	—	Not done	—	—	Not done	Not done	+	+
74	Unknown	F	+	—	—	—	—	+	—	Not done	—	—	—	Not done	+	+
8	1.7	F	+	—	+	—	—	Unknown	—	Not done	—	—	Not done	Not done	+	+
5	2.0	M	+	—	+	—	+	—	—	Not done	+	—	Not done	Not done	+	+
9	4.0	M	+	—	—	—	+	Unknown	—	Not done	—	—	Not done	Not done	+	+
45	0.2	F	+	—	—	—	+	—	—	Not done	—	—	Not done	Not done	+	+
57	0.6	M	+	—	—	—	+	—	—	Not done	—	—	Not done	Not done	+	+
25	5.6	F	+	—	—	+	+	—	—	Not done	—	—	Not done	Not done	+	+
32	Unknown	F	+	—	—	+	+	—	—	Not done	—	—	Not done	Not done	+	+
54	Unknown	M	+	—	—	+	+	Unknown	—	Not done	—	—	Not done	Not done	+	+
55	Unknown	F	+	—	—	+	+	Unknown	—	Not done	+	—	Not done	Not done	+	+
4	1.8	F	+	+	—	+	—	—	—	Not done	—	—	Not done	Not done	+	+
30	3.9	M	+	—	—	+	—	—	—	Not done	—	—	Not done	Not done	+	+
33	8.4	M	+	—	—	—	—	—	+	Not done	—	—	Not done	Not done	+	+
44	4.4	M	+	+	+	—	—	—	—	Not done	—	—	Not done	Not done	+	+
52	Unknown	F	+	—	+	—	—	—	—	Not done	—	—	Not done	Not done	+	+
53	7.0	F	+	—	+	—	—	—	—	Not done	—	—	Not done	Not done	+	+
61	13.6	F	—	+	+	—	—	Unknown	—	Not done	—	—	Not done	—	+	+
28	1.7	F	+	—	+	—	—	—	—	Not done	—	—	Not done	—	+	+

(continued)

Table 2 Continued

Pat Nr	Age at First Suspicion	Sex	CALM ≥6	Freckling	OPG	Neurofibromas ≥2 of Any Type	Neurofibromas ≥1 Plexiform	Parent Fulfilling NF1 Criteria	Lisch Nodules ≥2	Choroidal Abnormalities ≥2	Sphenoid Dysplasia	Pseudarthrosis	Anterolateral Bowing of the Tibia	Heterozygous Pathogenic NF1 Variant	Revised Criteria Fulfilled	NIH Criteria Fulfilled
Pigmentary findings only																
13	7.4	F	+	+	—	—	—	—	—	Not done	—	—	Not done	+	+	+
14	4.4	M	+	+	—	—	—	—	—	Not done	—	—	Not done	+	+	+
26	5.2	F	+	+	—	—	—	—	—	Not done	—	—	Not done	Not done	+	+
59	7.7	F	+	+	—	—	—	—	—	Not done	—	—	Not done	Not done	+	+
70	3.0	M	+	+	—	—	—	Unknown	—	Not done	—	—	Not done	Not done	+	+
63	10.4	M	+	+	—	—	—	—	—	Not done	—	—	Not done	—	+	+
19	0.5	F	+	—	—	—	—	—	—	Not done	—	—	Not done	+	+	—
38	7.2	F	+	—	—	—	—	—	—	Not done	—	—	Not done	+	+	—
39	0.7	M	+	—	—	—	—	—	—	Not done	—	—	Not done	+	+	—
21	2.5	M	+	—	—	—	—	—	—	Not done	—	—	Not done	+	+	—
34	0.6	M	+	—	—	—	—	—	—	Not done	—	—	Not done	+	+	—
42	1.2	F	+	—	—	—	—	—	—	Not done	—	—	Not done	+	+	—
46	4.5	M	+	—	—	—	—	Unknown	—	Not done	—	—	Not done	+	+	—
48	0.3	F	+	—	—	—	—	—	—	Not done	—	—	Not done	+	+	—
56	0.3	M	+	—	—	—	—	—	—	Not done	—	—	Not done	+	+	—
69	3.0	M	+	—	—	—	—	—	—	Not done	—	—	Not done	+	+	—
72	1.4	F	+	—	—	—	—	—	—	Not done	—	—	Not done	+	+	—
2	2.4	M	+	—	—	—	—	Unknown	—	Not done	—	—	Not done	Not done	—	—
6	1.1	F	+	—	—	—	—	Unknown	—	Not done	—	—	Not done	Not done	—	—
10	Unknown	M	+	—	—	—	—	—	—	Not done	—	—	Not done	Not done	—	—
17	3.4	M	+	—	—	—	—	—	—	Not done	—	—	Not done	Not done	—	—
24	8.0	M	+	—	—	—	—	—	—	Not done	—	—	—	Not done	—	—
29	0.6	M	+	—	—	—	—	—	—	Not done	—	—	Not done	Not done	—	—
49	5.6	M	+	—	—	—	—	—	—	Not done	—	—	Not done	Not done	—	—
58	2.9	M	+	—	—	—	—	—	—	Not done	—	—	Not done	Not done	—	—
62	6.9	M	+	—	—	—	—	Unknown	—	Not done	—	—	Not done	Not done	—	—
64	4.3	F	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Not done	Not done	—	—
65	7.6	F	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Not done	—	—
75	2.2	M	+	—	—	—	—	—	—	Not done	—	—	—	Not done	—	—
7	5.4	M	+	—	—	—	—	—	—	Not done	—	—	Not done	—	—	—
47	1.3	M	+	—	—	—	—	—	—	Not done	—	—	Not done	—	—	—
Segmental clinical findings																
23	8.5	M	—	—	—	—	—	—	—	Not done	—	—	—	Not done	—	—
37	13.0	F	—	—	—	—	+	—	—	Not done	—	—	—	Not done	—	—
67	11.2	M	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	Not done	Not done	—	—
2021 revised and/or 1997 NIH diagnostic criteria not fulfilled																
43	12.2	M	—	—	—	—	—	—	—	Not done	—	—	Not done	Not done	—	—
35	1.1	F	—	—	—	—	—	—	—	Not done	—	—	Not done	Not done	—	—
51	0.0	M	—	—	—	—	—	+	—	Not done	—	—	Not done	+	+	—

+, present; —, not present; CALM, café-au-lait macules; F, female; M, male; NF1, neurofibromatosis type 1; NIH, National Institutes of Health; Nr, number; OPG, optic pathway glioma; Pat, patient.

diagnostic criteria, the NIH and the revised, including at least 1 criterion other than pigmentary findings. In 21 of those (21/48; 43.8%), genetic testing was performed and identified pathogenic *NF1* variants in 19 (19/21; 90.5%) individuals.

Within our pediatric cohort, 41.3% (31/75) of patients presented with only pigmentary findings (CALMs and/or skinfold freckling) at first suspicion of NF1. Genetic testing was performed in 16 of those 31 patients. Pathogenic *NF1* variants were identified in 13 patients (13/16; 81.3%). No pathogenic *NF1* variant was identified in the remaining 3 individuals (3/16; 18.8%). One of those 3 patients fulfilled requirements for CMMRD testing (CALMs, *NF1/SPRED1* germline variant negative, absence of NF1 signs in both parents) but no additional feature of CMMRD was present in the patient or family. In another one of those 3 patients, a heterozygous variant of uncertain significance was identified in *SPRED1*. *SPRED1* analysis was not performed in the third patient.

Three (3/75; 4.0%) other patients presented with segmental clinical findings (solitary [$n = 2$] and multiple neurofibroma [$n = 1$] with or without CALMs with localized distribution) and clinically unaffected parents and siblings. Thus, we suspected segmental mosaic NF1.

Three (3/75; 4.0%) additional patients did not meet the NIH and/or the revised diagnostic criteria at first suspicion of NF1. So far, 1 of these 3 patients underwent genetic testing confirming NF1. In a second patient, 5 CALMs were documented and NF1 was suspected but the NIH and revised criteria were not fulfilled. Yet, a sibling was diagnosed with Hodgkin lymphoma and presented with more than 6 CALMs. Although this patient met 1 additional feature (ie, sibling with a diagnostic NF1 sign and any childhood malignancy), requirements for CMMRD testing (ie, no *SPRED1* germline variant detected) were not fulfilled. Both individuals did not undergo genetic testing.

Focal areas of signal intensity (FASI), nevus anemicus, and juvenile xanthogranuloma have been proposed as diagnostic criteria but were not incorporated in the revised criteria. Brain MRI were performed in 43 patients and FASI were detected in 67.4% (29/43). In total, 26 (26/29; 89.7%) of those patients met the revised diagnostic criteria at first suspicion of NF1, whereas 2 (2/29; 6.9%) did not meet the criteria until the last follow up. A total of 11 (11/29; 37.9%) patients with FASI underwent genetic testing. Heterozygous pathogenic *NF1* variants were identified in all of them. Juvenile xanthogranuloma was documented in 1 of 75 patients. Nevus anemicus was not documented in any of the patients.

Discussion

Clinical diagnosis of NF1 in children and adolescents holds numerous challenges, eg, the low sensitivity of NIH NF1 clinical diagnostic criteria in young patients. In addition,

there are limitations to differentiate between phenotypically overlapping conditions, particularly in children presenting with pigmentary findings only. On these grounds, international experts proposed revised diagnostic criteria in 2021.

Our data mirror these challenges. We identified 75 children and adolescents with suspected NF1 in a pediatric cohort at the University Children's Hospital Augsburg. At first suspicion of NF1, 58.7% of patients met the NIH criteria, whereas 74.7% would have been diagnosed on the basis of the revised criteria. This difference was due to the molecular genetic testing of 11 of the 75 (14.7%) patients. The revised criteria incorporated genetic testing, which is useful especially in young children who would have not fulfilled the NIH criteria. In line with this observation, the difference decreased (70.7% NIH, 76.0% revised) at last follow up upon increasing penetrance of clinical NF1-signs (freckling, neurofibromas, OPG) and increasing age.

Importantly, the revised criteria merely include an affected parent and not an affected sibling. The expert panel for CMMRD diagnostic genetic testing decided that a diagnosis of CMMRD should be considered, if only siblings were affected.¹⁰ In our patient cohort, all affected first-degree relatives were affected parents.

CALMs were documented in 4 siblings from unaffected parents. It is noteworthy that 1 sibling with CALMs and Hodgkin lymphoma was reported, warranting further evaluation for CMMRD in 1 of those patients.

We identified 3 patients with a segmental distribution of neurofibroma and/or CALMs. According to the expert panel, genetic testing for mosaic NF1 is recommended.

The consensus recommendations advocate genetic testing for children who meet the NF1 diagnosis on the basis of only pigmentary findings and consideration of alternatives such as Legius syndrome and CMMRD.⁹ In our cohort, 31 patients presented with isolated pigmentary findings, of which only 51.6% underwent genetic testing. So far, genetic testing confirmed NF1 in most of these patients. In 1 patient, a variant of uncertain significance in *SPRED1* was identified and in other 2 patients, genetic testing needs to be complemented by *SPRED1*. One of those patients, however, presented with additional features suspicious of CMMRD. Based on the documented clinical items/phenotype without supplemental genetic analyses, we were not able to consider alternative diagnoses such as other RASopathies and McCune-Albright syndrome in those children.

FASI, nevus anemicus, and juvenile xanthogranuloma were proposed diagnostic items but were not included in the revised criteria because of insufficient data on specificity and/or sensitivity. FASI were detected in 69.0% of our patients in the cranial MRI. Genetic testing was performed and heterozygous pathogenic *NF1* variants were identified in 37.9% of those patients. If FASI would have been a diagnostic criterion, an additional 6.9% of patients would have been diagnosed with NF1.

Our study has several limitations.

1. Our approach was based on a retrospective chart review. Important information may not have been fully documented.
2. The cohort has a high prevalence of OPG (18/75 and 18/43 with MRI data) and probably reflects the pediatric oncology bias of the University Children's Hospital Augsburg.
3. Choroidal abnormalities have a high specificity and sensitivity for NF1¹¹ and allow for the differentiation between NF1 and Legius syndrome.^{11,12} However, we were not able to evaluate this new ophthalmologic criterion because choroidal abnormalities were not routinely documented and/or assessed.
4. We may not have been aware of anterolateral bowing of the lower limbs.
5. Finally, the detection rate and specificity of *NF1* genetic testing depend on the approach including dosage analysis to detect copy-number variants and DNA- and RNA-based sequencing approaches.

In our study, genetic testing was performed in various laboratories with different and possibly not all technical approaches. Thus, we may have missed pathogenic *NF1* variants in some patients. Two patients met the NIH and the revised diagnostic criteria (including bilateral pigmentary findings) but pathogenic *NF1* variants were not identified in their blood samples. This raises suspicion of generalized (postzygotic) mosaic NF1 and the analysis of affected tissue may be necessary. In addition, sensitivity of the technology for detecting mosaicism needs to be considered.

In our pediatric cohort, the 2021 revised diagnostic criteria established an NF1 diagnosis in more patients than the 1997 NIH diagnostic criteria. Criteria were fulfilled using genetic testing in all 12 patients diagnosed by revised criteria before NIH criteria. Particularly young children with pigmentary findings only were detected by the new diagnostic criterion "genetic diagnosis". To identify patients with segmental mosaic NF1, patients with pigmentary findings only, patients with additional features suggestive of CMMRD, and/or patients with alternative diagnosis, thorough clinical evaluations are necessary and may be complemented by genetic testing.

Data Availability

Data are available individually upon request.

Acknowledgments

This work is supported by the PLGA Fund at the Pediatric Brain Tumor Foundation of the United States, Inc. The research of M.K. on hereditary cancer predisposition is supported by research funding of the Medical Faculty, University of Augsburg, Germany.

Author Information

Conceptualization: M.K.; Data Curation: D.A.-T., J.H., S.H.; Formal Analysis: D.A.-T., M.K.; Funding Acquisition: A.K.G., M.K.; Investigation: D.A.-T., J.H., S.H., M.S., D.W., A.K.G., M.C.F., M.K.; Methodology: A.K.G., M.K.; Supervision: M.C.F., M.K.; Writing-original draft: D.A.-T., M.K.; Writing-review and editing: D.W., A.K.G., M.K.

Ethics Declaration

The study was approved by the ethics committee of Ludwig Maximilian University Munich, Germany (approval number, 21-1103). Owing to the retrospective manner of the study, written informed consent was not obtained.

Conflict of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

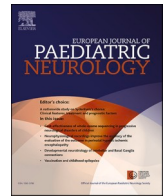
Additional Information

The online version of this article (<https://doi.org/10.1016/j.gim.2022.05.013>) contains supplementary material, which is available to authorized users.

References

1. Lammert M, Friedman JM, Kluwe L, Mautner VF. Prevalence of neurofibromatosis 1 in German children at elementary school enrollment. *Arch Dermatol*. 2005;141(1):71–74. <http://doi.org/10.1001/archderm.141.1.71>.
2. Evans DG, Howard E, Giblin C, et al. Birth incidence and prevalence of tumor-prone syndromes: estimates from a UK family genetic register service. *Am J Med Genet A*. 2010;152A(2):327–332. <http://doi.org/10.1002/ajmg.a.33139>.
3. Neurofibromatosis. Conference statement. National Institutes of Health Consensus Development Conference. *Arch Neurol*. 1988;45(5):575–578.
4. Gutmann DH, Aylsworth A, Carey JC, et al. The diagnostic evaluation and multidisciplinary management of neurofibromatosis 1 and neurofibromatosis 2. *JAMA*. 1997;278(1):51–57.
5. Villani A, Greer MC, Kalish JM, et al. Recommendations for cancer surveillance in individuals with RASopathies and other rare genetic conditions with increased cancer risk. *Clin Cancer Res*. 2017;23(12):e83–e90. <http://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-0631>.
6. Tabori U, Hansford JR, Achatz MI, et al. Clinical management and tumor surveillance recommendations of inherited mismatch repair deficiency in childhood. *Clin Cancer Res*. 2017;23(11):e32–e37. <http://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-0574>.
7. Messiaen L, Yao S, Brems H, et al. Clinical and mutational spectrum of neurofibromatosis type 1-like syndrome. *JAMA*. 2009;302(19):2111–2118. Published correction appears in *JAMA*. 2010;303(24):2477. <https://doi.org/10.1001/jama.2009.1663>.
8. Wimmer K, Rosenbaum T, Messiaen L. Connections between constitutional mismatch repair deficiency syndrome and neurofibromatosis type 1. *Clin Genet*. 2017;91(4):507–519. <http://doi.org/10.1111/cge.12904>.
9. Legius E, Messiaen L, Wolkenstein P, et al. Revised diagnostic criteria for neurofibromatosis type 1 and Legius syndrome: an international

- consensus recommendation. *Genet Med*. 2021;23(8):1506–1513. <http://doi.org/10.1038/s41436-021-01170-5>.
10. Suerink M, Ripperger T, Messiaen L, et al. Constitutional mismatch repair deficiency as a differential diagnosis of neurofibromatosis type 1: consensus guidelines for testing a child without malignancy. *J Med Genet*. 2019;56(2):53–62. <http://doi.org/10.1136/jmedgenet-2018-105664>.
 11. Cassiman C, Casteels I, Jacob J, et al. Choroidal abnormalities in cafe-au-lait syndromes: a new differential diagnostic tool? *Clin Genet*. 2017;91(4):529–535. <http://doi.org/10.1111/cge.12873>.
 12. Vagge A, Camicione P, Capris C, et al. Choroidal abnormalities in neurofibromatosis type 1 detected by near-infrared reflectance imaging in paediatric population. *Acta Ophthalmol*. 2015;93(8):e667–e671. <http://doi.org/10.1111/aos.12750>.



Comprehensive neurological evaluation of a cohort of patients with neurofibromatosis type 1 from a single institution

Daniela Angelova-Toshkina^a, Josua A. Decker^b, Thomas Traunwieser^a, Johannes Holzapfel^a, Stefanie Bette^b, Simon Huber^a, Mareike Schimmel^a, Kurt Vollert^b, Brigitte Bison^c, Thomas Kröncke^b, Nuria C. Bramswig^d, Dagmar Wiczorek^d, Astrid K. Gnekow^a, Michael C. Frühwald^a, Michaela Kühlen^{a,*}

^a Paediatric and Adolescent Medicine, University Medical Centre, Stenglinstr. 2, 86156, Augsburg, Germany

^b Department of Diagnostic and Interventional Radiology and Neuroradiology, University Medical Centre, Stenglinstraße 2, 86156, Augsburg, Germany

^c Department of Diagnostic and Interventional Neuroradiology, University Hospital Augsburg, Stenglinstr. 2, 86156, Augsburg, Germany

^d Institute of Human Genetics, Medical Faculty and University Hospital Düsseldorf, Heinrich-Heine-University Düsseldorf, Moorenstr. 5, 40255, Düsseldorf, Germany

ARTICLE INFO

Keywords:

Neurofibromatosis type 1
Children
Neurological manifestations
Focal areas of signal intensity
Genotype
Phenotype

ABSTRACT

Neurofibromatosis type 1 (NF1) is a phenotypically heterogeneous multisystem cancer predisposition syndrome manifesting in childhood and adolescents. Central nervous system (CNS) manifestations include structural, neurodevelopmental, and neoplastic disease. We aimed to (1) characterize the spectrum of CNS manifestations of NF1 in a paediatric population, (2) explore radiological features in the CNS by image analyses, and (3) correlate genotype with phenotypic expression for those with a genetic diagnosis. We performed a database search in the hospital information system covering the period between January 2017 and December 2020. We evaluated the phenotype by retrospective chart review and imaging analysis. 59 patients were diagnosed with NF1 [median age 10.6 years (range, 1.1–22.6); 31 female] at last follow-up, pathogenic *NF1* variants were identified in 26/29. 49/59 patients presented with neurological manifestations including 28 with structural and neurodevelopmental findings, 16 with neurodevelopmental, and 5 with structural findings only. Focal areas of signal intensity (FASI) were identified in 29/39, cerebrovascular anomalies in 4/39. Neurodevelopmental delay was reported in 27/59 patients, learning difficulties in 19/59. Optic pathway gliomas (OPG) were diagnosed in 18/59 patients, 13/59 had low-grade gliomas outside the visual pathways. 12 patients received chemotherapy. Beside the established *NF1* microdeletion, neither genotype nor FASI were associated with the neurological phenotype. NF1 was associated with a spectrum of CNS manifestations in at least 83.0% of patients. Regular neuropsychological assessment complementing frequent clinical and ophthalmologic testing for OPG is necessary in the care of each child with NF1.

1. Introduction

Neurofibromatosis type 1 (NF1; OMIM 613113) is a phenotypically heterogeneous multisystem cancer predisposition syndrome manifesting in childhood and adolescents. The prevalence is approximately 1 in 3000 individuals worldwide [1]. About half of the conditions are inherited with a known family history [2]. Yet, even with an identical

pathogenic *NF1* variant in inherited cases, clinical presentation can be highly variable. NF1 is diagnosed clinically by the National Institutes of Health (NIH) diagnostic criteria (established in 1987, confirmed in 1997) [1,3] or the revised diagnostic criteria from 2021 [4].

NF1 presents with various central nervous system (CNS) manifestations including structural, neurodevelopmental, and neoplastic disease.

Non-neoplastic structural manifestations of NF1 include

* Corresponding author.

E-mail addresses: daniela.angelova-toshkina@uk-augsburg.de (D. Angelova-Toshkina), josua.decker@uk-augsburg.de (J.A. Decker), thomas.traunwieser@uk-augsburg.de (T. Traunwieser), johannes.holzapfel@uk-augsburg.de (J. Holzapfel), stefanie.bette@uk-augsburg.de (S. Bette), simon.huber@uk-augsburg.de (S. Huber), mareike.schimmel@uk-augsburg.de (M. Schimmel), kurt.vollert@uk-augsburg.de (K. Vollert), brigitte.bison@uk-augsburg.de (B. Bison), thomas.kroencke@uk-augsburg.de (T. Kröncke), nuria.bramswig@hhu.de (N.C. Bramswig), dagmar.wiczorek@med.uni-duesseldorf.de (D. Wiczorek), astrid.gnekow@uk-augsburg.de (A.K. Gnekow), michael.fruehwald@uk-augsburg.de (M.C. Frühwald), michaela.kuehlen@uk-augsburg.de (M. Kühlen).

<https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2023.02.006>

Received 7 November 2022; Received in revised form 5 February 2023; Accepted 26 February 2023

Available online 5 March 2023

1090-3798/© 2023 European Paediatric Neurology Society. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

macrocephaly, stenosis of the aqueduct, vasculopathy, and focal areas of signal intensity (FASI) [5]. Vasculopathy includes stenosis or occlusion of the (arterial) vessels, aneurysms, arteriovenous fistulae, and Moya-moya syndrome. It typically affects children and adolescents. Moya-moya syndrome increases the risk of both ischemic and haemorrhagic strokes. FASI are usually located in the cerebellar white matter, medial temporal lobe, thalamus, basal ganglia, and brain stem, and are more likely to be bilateral.

Neurodevelopmental abnormalities include problems such as motor delay, lowering of intellectual abilities, deficits in executive functioning, impaired visuospatial processing, and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) [6–8]. Movement difficulties comprise manual dexterity, ball skills, and balance. Specific learning disorders encompass lower performance in reading, mathematics, and/or writing. Deficits in executive function include both organization and regulation, specifically with respect to working memory, abstraction, initiation of mental rules or task sets, cognitive flexibility, planning, and problems solving, emotional regulation, and attentional control [9,10]. Moreover, children with NF1 also harbour difficulties in social functioning across multiple domains including autism spectrum disorder (ASD) and other psychiatric conditions (mood and anxiety disorders). Males and females appear to be similarly affected by ASD [11].

Neoplastic CNS manifestations during childhood and adolescence are mostly low-grade gliomas (LGGs), predominantly pilocytic astrocytoma WHO grade I [12–15]. These tumours arise with a predilection for the optic pathway/hypothalamus (66–75%), followed by the brain stem (10–15%). Many optic pathway gliomas (OPGs) are asymptomatic, but they can be associated with visual loss, and – if encroaching the hypothalamus – precocious puberty.

To better predict phenotypic expression and to improve clinical management in patients with NF1, several studies aimed at establishing genotype-phenotype correlations. However, more than 3000 different *NF1* pathogenic variants have been identified [2]. As a consequence, to date, only 4 genotype-phenotype correlations (*NF1* p.Met992del; *NF1* p.Arg1809; *NF1* microdeletions type 1–4; missense mutations in one of the codons 844–848) were confirmed in larger data sets [16–19]. In addition, neuroimaging studies aim to establish a link between cognitive deficits and the presence, number, and/or localization of FASI and, thus, to explain the cognitive phenotype in patients with NF1 [20–22].

We aimed to (1) characterize the spectrum of CNS manifestations of NF1 in a paediatric population, (2) explore radiological features of NF1 in the CNS by image analyses, and (3) correlate genotype with phenotypic expression for those with a genetic diagnosis.

2. Patients and methods

We performed a database search in the hospital information system (ORBIS® v. 08.043.302.11210 DACHL, Agfa Health Care N.V., Belgium) of the University Children's Hospital Augsburg with International Classification of Disease-10 code Q85.0 (phakomatoses, not elsewhere classified). We checked results for plausibility reviewing text entries (NF1, Legius syndrome, Café-au-lait macule (CALM), freckling, optic pathway glioma, neurofibroma, Lisch nodule). Patients aged <18 years at first contact between January 1, 2017 and December 31, 2020 were included. Patients who did not fulfil NIH diagnostic criteria for NF1 at last follow-up were excluded from this analysis unless genetic testing identified a pathogenic variant in *NF1*. The study was approved by the responsible ethics committee of the Ludwig Maximilian University of Munich (approval number, 21–1103), Germany.

The University Children's Hospital is a tertiary care children's hospital caring for children and adolescents aged <18 years in the catchment area of Swabian Bavaria. Patients are referred from primary and secondary care paediatricians as well as other children's hospitals. There is a strong expertise in paediatric (neuro-) oncology and a focus on neuropaediatrics. Until December 31, 2018, the national reference centre for children and adolescents with LGG was situated at the

University Children's Hospital.

We evaluated neurological manifestations through retrospective chart review according to those clinical signs documented at the first and subsequent visits until last follow-up. Data were recorded by general paediatricians, neuropaediatricians, and/or paediatric oncologists during regular and/or unscheduled visits for signs and symptoms including data from the “yellow booklet” (documenting preventive medical check-ups) and medical history provided by parents. All patients have been evaluated at least once by a neuropaediatrician or paediatric oncologist with strong expertise in neuro-oncology (AKG, MCF). A sign was considered not present for an individual if no information was provided in the patient's chart and/or if magnetic resonance imaging (MRI) and/or ophthalmologic evaluation was not performed. Follow-up ended on June 30th, 2020.

Macrocephaly was defined as a head circumference >97th percentile according to the German Health Interview and Examination Survey for Children and Adolescents (KIGGS) study and the WHO scale, respectively.

Neurologic development was evaluated based on the early childhood development milestones. Electroencephalography was conducted if clinically indicated. Epilepsy was diagnosed based on the 2014 International League Against Epilepsy definition. Attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) and autism spectrum disorder (ASD) were diagnosed through neuropsychological assessment (conducted in other institutions). Further behavioural problems, social interaction disturbances, and learning difficulties, were assessed based on parental report.

Patients registered with the German LGG study received standardized neuropsychological after-care. Criteria for neuropsychological evaluation of the German LGG studies for patients with LGG are specified in Traunwieser et al. [23]. Neuropsychological functions were assessed with the German “Neuropsychological Basic Diagnostic” screening tool (NBD). The NBD analyses cognitive dimensions in several major domains with age-appropriate tests. These cognitive domains include fluid intelligence (FI), crystallized intelligence (CI), verbal short-term memory (STM), visual processing (VP), psychomotor speed of the dominant (PMS-DH), non-dominant (PMS-NDH), and coordination of both hands (PMS-BH), as well as cognitive processing speed (PS). NBD results were compared with age-corrected normative data and are displayed as standard scores (SS, mean $\bar{x}$ = 100 and standard deviation [SD] = 15). Due to small sample size, we performed the Mann–Whitney *U* test to compare the data with the expected population score. Cohen's *d* was compiled to analyse effect sizes, with $d \geq 0.8$ interpreted as a highly relevant effect. Results were exploratory and no significance level was fixed. $p < .01$ was regarded as statistically noticeable to adjust for multiple testing, whereas values between $p > .01$ and $p < .05$ were interpreted as marginally statistically noticeable.

Magnetic resonance imaging (MRI) of the brain with or without contrast was performed for symptoms [e.g., ophthalmological findings, neurological symptoms, macrocephaly] or screening with or without spinal MRI. In the case of suspected low-grade glioma, reference evaluation was performed by the national reference radiologist for paediatric brain tumours (B.B.). OPG were retrospectively classified according to the PLAN criteria of the modified Dodge Classification (MDC) [24].

For image analyses, patients were included if they had been scanned at the University Children's Hospital Augsburg on a 3 T MRI system (Ingenia, Philips) with an identical protocol including both a coronal T2 FLAIR and a 1 mm 3D T1-weighted scan after intravenous contrast administration. MRI series were exported anonymously, subsequently defaced using the open-source brain extraction tool HD-BET [25] and transferred to a dedicated workstation for lesion segmentation. All cerebral lesions that were identified and reported by experienced paediatric radiologists were subsequently segmented using the open-source software 3D Slicer (<https://www.slicer.org/>). Finally, the number of all lesions were assessed, and volumes of all lesions were measured for each scan.

3. Results

A total of 59 children and adolescents with NF1 were identified at the University Children's Hospital Augsburg within the 4 year period. Thirty-one (of 59; 52.5%) patients were female. Details on demographic data and CNS manifestations at last follow-up are given in Table 1. As of June 30, 2021, one patient had died of progressive plexiform neurofibroma and pilocytic astrocytoma of the medulla oblongata due to central respiratory dysfunction and obstruction of the nasopharynx.

As reported [26], 44 (of 59; 74.6%) patients met the NIH criteria at first visit (median age 4.1 years; range, 0.0–13.6) and 55 (of 59; 93.2%) patients at last follow-up (median age 10.6 years; range, 1.1–22.6). In 26 (of 29; 89.7%) patients, diagnosis of NF1 was genetically confirmed, 30 (of 59; 50.8%) patients did not receive genetic testing.

A total of 49 (of 59; 83.0%) patients presented with a wide spectrum of neurological manifestations including 28 patients with structural and neurodevelopmental findings, 16 patients with neurodevelopmental, and 5 patients with structural findings only.

3.1. Non-neoplastic structural CNS manifestations

Macrocephaly was present in 12 (of 59; 20.3%) patients, an additional number of $n = 5$ (of 59; 8.5%) demonstrated disproportional head growth.

Brain MRI with and without contrast was performed in 39 (of 59; 66.1%) patients [for ophthalmological findings ($n = 11$) such as deteriorating vision or vision loss, nystagmus, strabismus, papilledema, papillary atrophy, proptosis, swelling of the eyelid; macrocephaly and/or neurological symptoms ($n = 7$) such as headache, developmental delay, suspicion of seizures, behavioural problems; suspicion of NF1 ($n = 12$); other or unknown reasons ($n = 9$)] at a median age of 5.3 years (range, 0.2–17.7).

Stenosis of the aqueduct was diagnosed in 4 (of 39; 10.3%) patients with brain stem gliomas ($n = 3$) and idiopathic ($n = 1$), respectively. Subsequent hydrocephalus was treated with ventriculoperitoneal shunt in 3 of these.

Moyamoya syndrome was identified in 4 (of 39; 10.3%) patients, in of those hypoplasia of the posterior cerebral artery was diagnosed. Two of the patients with Moyamoya syndrome suffered from a stroke following occlusion of the middle cerebral artery.

FASI were identified in 29 (of 39; 74.4%) patients in various localizations throughout the brain.

3.1.1. Image analyses

MRI scans of 23 (of 39; 59.0%) patients (median age of 7.6 years; range, 1.1–13.8) were analysed, 16 (of 39; 51.3%) patients were excluded from image analyses due to different imaging protocols ($n = 11$), missing post-contrast series ($n = 3$), and movement artifacts ($n = 2$). T2 hyperintense lesions were identified in 22 patients (of 23; 95.6%; mean number: 4.0 ± 2.2 ; range, 1–7) with a total mean volume of $6.6 \pm 6.8 \text{ cm}^3$ (range, 0.4–34.6). Four (of 23; 17.4%) patients had lesions (mean number: 1.5 ± 0.9) with enhancement on T1 post-contrast scans and a mean volume of $1.6 \pm 0.8 \text{ cm}^3$ (Table 2).

MRI revealed T2 hyperintense lesions in the cerebellum ($n = 11$), basal ganglia ($n = 19$), brain stem ($n = 12$), corpus callosum ($n = 6$), subcortical ($n = 4$) and periventricular ($n = 4$) regions (Fig. 1).

3.2. Neurodevelopmental CNS manifestations

A history of neurodevelopmental delay was reported in 27 (of 59; 45.8%) patients, in 20 (of 59; 33.9%) motor development delay was diagnosed, in 17 (of 59; 28.8%) speech delay, and in 11 (of 59; 18.6%) cognitive delay. Six (of 59; 10.2%) patients were identified with global developmental disorder.

Reduced muscle strength was present in 7 (of 59, 11.9%) patients and motor performance deficits (mostly in fine motor skills) in 19 (of 59;

32.3%) patients. In 13 (of 19; 68.4%) patients with motor performance deficits, delayed motor development in early childhood was reported. Motor coordination difficulties were reported in 7 (of 59; 11.9%) patients. Of those, 2 patients presented with hemiparesis [following tumour resection ($n = 1$) and stroke ($n = 1$)] and 1 patient with severe visual impairment due to an OPG. Four (of 59; 6.8%) patients were diagnosed with sensory deficits due to spinal plexiform neurofibroma in 3 of those. Of those, 1 patient additionally presented with paraplegic syndrome due to a giant thoracolumbar neurofibroma.

Learning difficulties including dyslexia were reported in 19 (of 59; 32.2%) patients, concentration difficulties in 12 (of 59; 20.3%) patients, and (suspicion of) ADHD in 4 (of 59; 6.8%) patients.

Behavioural anomalies were reported in 5 (of 59; 8.5%) patients including aggressiveness towards themselves or others, disturbances in social interaction, and low frustration tolerance. ASD was diagnosed in 1 (of 59; 1.7%) patient.

Epilepsy was diagnosed in 3 (of 59; 5.1%) patients with central nervous system tumours ($n = 2$) and following stroke ($n = 1$). Three (of 59; 5.1%) other patients had epileptic potentials without clinical correlation.

3.2.1. Neuropsychological function tested by the German 'Neuropsychological Basic Diagnostic' screening tool

Neuropsychological data were available for 10 (of 25; 40.0%) patients with LGG (demographic details in Supplemental Table 1). Of those, 8 patients had a radiologically diagnosed OPG. Six patients had received chemotherapy prior to the NBD screening including one patient with prior surgery.

The median age at diagnosis was 4.6 years, with a slightly higher female ratio (7 of 10). The cohort showed statistically noticeable impairments compared to the expected population score in visual processing, psychomotor speed (PMS) of the non-dominant hand (NDH), as well as of both hands ($p = .008$; $d = 3.88$ – 3.89). Marginally statistically noticeable results were detected for the PMS of the dominant hand (DH) as well as cognitive processing speed ($p = .011$ – $.034$; $d = 2.67$ – 3.21). Median scores were within the lower normal range for fluid intelligence and visual processing, as well as below the lower normal range for PMS-DH, PMS-NDH, PMS-BH and PS (Table 3).

3.3. Neoplastic CNS manifestations

OPGs were diagnosed radiologically in 18 (of 59; 30.5%) patients at a median age of 3.9 years (range, 0.7–7.9 years) being symptomatic in 5 (of 18; 27.8%; median age 2.5 years) at the time of diagnosis. According to the PLAN-criteria, optic nerves were affected unilaterally (MDC 1a) or bilaterally (MDC 1b) in 2 (of 18; 11.1%) patients each, and in the pre-chiasmatic (junctional) section (MDC 1c) in 10 (55.5%) patients. The chiasm was involved centrally (MDC 2a) in 6 (33.3%) and asymmetrically (MDC 2b) in another 6 (33.3%). Optic tract involvement (MDC 3) was identified in 6 (33.3%) patients, diffuse involvement of the posterior tracts (MDC 4) concerned 2 (11.1%), and of the hypothalamus (MDC H+) another 5 (27.8%) patients (Fig. 2). Nine (of 18; 50.0%) patients received vincristine/carboplatin chemotherapy according to the effective German multicentre studies, indicated by clinical/visual deterioration and/or radiological progress, just 2 had additional resection (indication ill-defined, treated abroad previously) or biopsy ($n = 1$; for diagnostic workup in metastatic disease).

Thirteen (of 59; 22.0%) patients, including 6 with OPG, had LGGs outside the visual pathways (Fig. 1). Five (of 13; 38.5%) tumours were histologically classified as pilocytic astrocytoma, while biopsy was not performed in 8 (of 13; 61.5%) patients. Three patients (of 13; 23.1%) with brain stem ($n = 2$) and temporo-mesial ($n = 1$) LGG were treated with chemotherapy for radiological progress and/or severe symptoms.

Table 1

Demographic details and neurological manifestations in 59 children and adolescents with neurofibromatosis type 1 at last follow-up.

Pat- ID	Age at last follow-up	Sex	NIH criteria fulfilled	Heterozygous pathogenic <i>NF1</i> variant	FASI	OPG	LGG other than OPG	Stenosis of aqueduct	Vascular anomalies	Macrocephaly	Motor development delay	Speech delay	Cognitive delay	Global developmental disorder	Reduced muscle strength	Motor performance deficits/ coordination difficulties	Sensorimotoric deficits	Learning difficulties	Behavioural anomalies	ADHD	ASD	Epilepsy
1	18,3	m	+	n.d.	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-
2	16,9	f	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	1,8	f	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	17,4	m	+	n.d.	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
5	19,8	f	+	n.d.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
6	16,3	m	+	n.d.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
7	17,4	m	+	n.d.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	17,8	m	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	2,6	f	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	20,0	f	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
11	5,8	m	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	12,2	m	+	n.d.	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
13	8,2	f	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-
14	4,3	m	+	n.d.	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
15	11,2	f	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
16	16,8	f	+	n.d.	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
17	4,8	m	-	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
18	17,3	f	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
19	5,7	f	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	16,3	f	+	n.d.	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-
21	1,1	f	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	11,2	f	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-
23	12,6	m	+	n.d.	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+
24	2,4	f	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	6,7	f	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	9,3	m	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	1,6	m	-	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	12,0	f	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
29	15,5	f	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
30	8,2	m	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
31	9,6	f	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
32	12,2	f	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	6,1	f	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
34	15,3	m	+	n.d.	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-
35	12,9	f	+	n.d.	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+
36	7,9	m	-	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
37	4,2	f	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38	7,2	m	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
39	12,2	m	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
40	11,1	f	+	n.d.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41	11,4	f	+	n.d.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
42	13,1	m	+	n.d.	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
43	19,4	f	+	n.d.	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
44	6,5	m	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
45	22,6	m	+	n.d.	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
46	13,0	m	+	n.d.	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-
47	15,9	f	+	n.d.	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-
48	12,3	f	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
49	13,6	f	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50	17,6	m	+	-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-

(continued on next page)

Table 1 (continued)

Pat- ID	Age at last follow-up	Sex	NIH criteria fulfilled	Heterozygous pathogenic <i>NF1</i> variant	FASI	OPG	LGG other than OPG	Stenosis of aqueduct	Vascular anomalies	Macrocephaly	Motor development delay	Speech delay	Cognitive delay	Global developmental disorder	Reduced muscle strength	Motor performance deficits/coordination difficulties	Sensorimotoric deficits	Learning difficulties	Behavioural anomalies	ADHD	ASD	Epilepsy
51	15,5	f	+	n.d.	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
52	4,2	m	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
53	1,4	m	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
54	5,4	m	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
55	12,2	m	+	n.d.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
56	7,3	m	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
57	1,7	f	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
58	1,1	m	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
59	3,6	f	+	n.d.	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Legend: n.d., MRI not done.

3.4. Correlation of neuroradiological manifestations with neurological symptoms

Volume of lesions and phenotype: A single lesion with a total volume of 34.6 cm³ involving the brain stem, thalamus, basal ganglia, corpus callosum, and periventricular and cerebral subcortical regions was identified in one patient with global developmental disorder and epilepsy. A single lesion of 0.4 cm³ in the corpus callosum was identified in one patient with learning difficulties and ADHD. Single lesions of 0.8 cm³ (involving the brain stem and thalamus one each) and 12.3 cm³ (involving the cerebellum, brain stem, basal ganglia, and thalamus) were identified in three neurologically unimpaired patients. Beside those 3 clinically asymptomatic patients, 19 (of 22; 86.4%) patients with evidence of lesions in detailed image analyses presented with a various spectrum of neurological manifestations.

Number of lesions and phenotype: Seven lesions were identified in 3 patients, 2 of those were diagnosed with development delay, motor coordination and learning difficulties. A single lesion was diagnosed in 6 patients, 3 of those each presented with motor difficulties and epilepsy, 2 each with development delay, ADHD, and learning difficulties, and one patient each presented with behavioural anomalies and ASD. In the three clinically unaffected patients, one (n = 2) and six lesions were identified in image analyses.

Location and phenotype: In 19 patients, T2 hyperintense lesions involved the basal ganglia. Of those, 11 patients presented with development delay, 12 patients with motor and/or coordination difficulties, and 7 patients with learning difficulties. The brain stem was involved in 12 patients presenting with development delay (n = 5), motor and/or coordination difficulties (n = 7), and learning difficulties (n = 5). In 11 patients, lesions involved the cerebellum (development delay n = 7, motor and/or coordination difficulties n = 7, learning difficulties n = 6). Of 11 patients with lesions affecting the thalamus, 7 patients each presented with development delay and motor/coordination difficulties, 4 patients with learning difficulties. In the three clinically unaffected patients, lesions involved the thalamus, basal ganglia, brain stem, and cerebellum (Fig. 3).

3.5. Genotype-phenotype correlation

Details on *NF1* gene variants were available in 21 of 26 patients with genetically confirmed diagnosis of NF1 (Fig. 4). Deletions were identified in 8 (of 21; 38.1%) patients, nonsense variants in 5 (of 21; 23.8%) patients, missense and intron variants in 3 (of 21; 14.3%) patients each, and splice site variants and insertions in 1 (of 21; 4.8%) patient each. Of the variants, 6 (of 21; 28.6%) were located in the cysteine serine rich domain, 2 (of 21; 9.5%) variants in the C-terminal domain, and 1 (of 21; 4.8%) variant each in the tubulin binding domain, GTPase activating protein related domain, and SEC14p homology domain.

A 5.15 Mb microdeletion 17q11.2q12(29,296,310–34,450,651)x1 (GRCh37/hg19) encompassing the *NF1* gene was identified in 1 (of 21; 4.8%) patient with facial dysmorphism, multiple CALM, reduced muscle strength, motor development delay, cognitive deficits, and propensity to infections. No other variant with an established genotype-phenotype correlation was identified.

4. Discussion

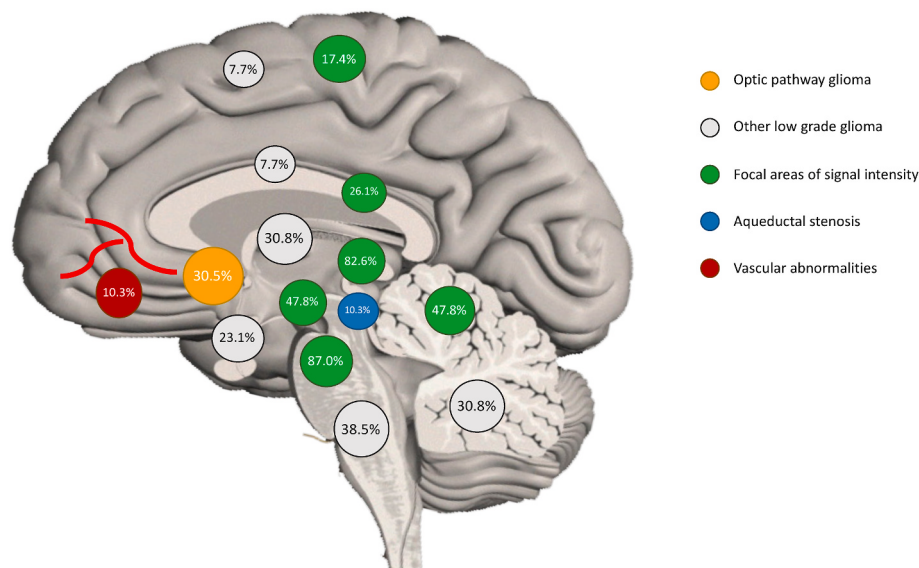
Neurofibromatosis type 1 may be associated with a spectrum of CNS manifestations manifesting in childhood. Our data mirror this association; at least 83.0% of patients presented with neurological symptoms and/or neuroradiological findings.

Cerebrovascular disease is a rare but important manifestation of NF1 primarily affecting the arterial blood vessels. Moyamoya syndrome was diagnosed in 4 (6.8%) patients, 2 of those suffered from a stroke. These numbers are within the reported range (2.5–6%) [27–29]. The mechanism underlying vasculopathy in NF1 is poorly understood. Particularly,

Table 2

Details on image analyses in 23 patients with MRI data and focal areas of signal intensity.

Pat. ID	Age at MRI	FLAIR		T1 post contrast		Localization						
		Number of lesions	Volume cm ³	Number of lesions	Volume cm ³	Cerebellum	Brain stem	Thalamus	Basal ganglia	Corpus callosum	Periventricular	Cerebral subcortical
1	11.6	5	6,8	3	2,8	+	+	+	+	–	–	–
4	10.4	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	+	+	–	+	–	–	–
5	13.8	6	5,4			–	+	–	+	+	+	–
6	13.3	5	10,1			–	–	–	–	+	–	–
12	10.2	0		0		–	–	–	–	–	–	–
13	3.7	7	9,4			–	–	+	+	–	–	–
14	2.7	5	4,8			+	–	–	+	–	–	–
15	4.8	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	–	–	+	+	–	–	–
21 ^a	1.1	1	0,8			–	–	+	–	–	–	–
22	4.6	6	12,3			+	+	+	+	–	–	–
23	8.1	1	1,3	1	1,1	–	–	–	–	–	–	+
29	13.4	1	0,4			–	–	–	–	+	–	–
30	5.9	7	6,5			+	–	+	+	–	–	–
33	3.3	4	4,4			–	–	–	+	–	–	+
34	8.9	6	4,9			+	–	–	+	–	–	–
35	11.5	1	3,8			+	–	–	–	–	–	–
40 ^a	6.7	6	5,7			+	–	–	+	–	–	–
41	8.1	7	8,8			+	+	+	+	–	–	–
42	10.8	4	2,1			+	+	–	+	–	–	–
43	13.3	4	5,6	1	1,6	–	+	+	+	+	–	–
47	8.8	6	4,8	1	0,7	+	+	+	+	+	+	–
49 ^a	7.7	1	0,8			–	+	–	–	–	–	–
51	9.5	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	–	+	–	+	–	–	+
53	1.4	2	4,2			–	–	–	+	–	+	–
54	3.6	1	34,6			–	+	+	thco	+	+	+
59	3.0	3	7,2			–	+	+	+	–	–	–

^a Clinically unaffected by neurological manifestations.**Fig. 1.** Percentage of patients with optic pathway gliomas, stenosis of the aqueduct, and vascular anomalies in 43 patients with MRI. Percentage of low-grade glioma (LGG) and focal areas of signal intensity (FASI) refer to the number of patients with LGG (n = 13) and FASI in MRI image analyses (n = 23), respectively.

Moyamoya syndrome may be attributable to radiotherapy effects [30–32]. However, none of the patients diagnosed with Moyamoya syndrome underwent radiotherapy.

Motor problems were reported in approximately one third to one half of children with NF1 [33,34]. In line with this, 33.9% of the patients in our cohort were diagnosed with motor development delay, 32.3% with motor performance deficits, and 11.9% of patients with motor coordination difficulties.

Neurocognitive deficits including mental learning and concentration difficulties, intellectual disability, attention deficits including ADHD, and ASD are increasingly recognized in children with NF1 [35–37].

Specific learning disorders and thus, lower performance in a particular subject, such as reading, mathematics, or writing, were observed in approximately 20% of NF1 patients and, thus, double that in the general paediatric population [38]. This is typically not attributable to lower general cognitive ability or comorbid medical conditions. 75% of children with NF1 will require some type of school accommodation or remedial teaching [39]. Learning and concentration difficulties were documented in 32.3% and 20.3% of the patients in our cohort. The general reduction in cognitive functioning observed among children with NF1 requires prompt recognition through comprehensive neuropsychological evaluation, and the early initiation of educational support

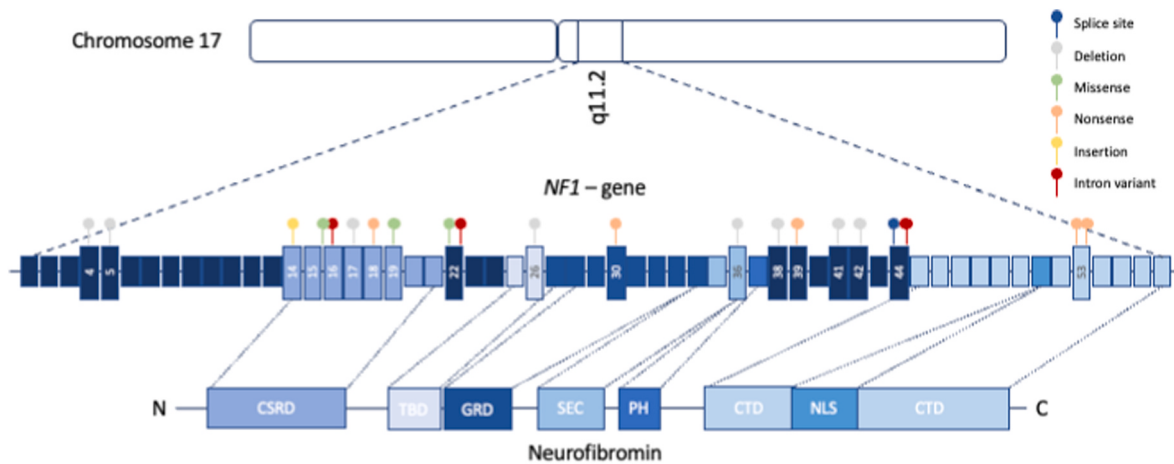


Fig. 4. Type of gene variants in 21 patients with genetically confirmed NF1. Details were not available in 5 patients.

Legend: CSRD, Cysteine Serine Rich Domain; CTD, C-Terminal Domain; GRD, GTPase Activating Protein Related Domain; NLS, Nuclear Localization Site; PH, Pleckstrin Homology Domain; SEC, SEC14p Homology Domain; TBD, Tubulin Binding Domain.

relationship with the presence, number, and location of FASI areas [52, 53]. Thalamic lesions seem to be strongly associated with cognitive impairment [54]. However, an association between location of FASI and cognitive deficits was not confirmed by others [55,56]. In our cohort, FASI were identified in 74.4% of patients. In 23 patients, MRI data were sufficient for more detailed image analysis. FASI occurred in the basal ganglia, brain stem, corpus callosum, subcortical and periventricular regions. However, we could not establish a relationship between the presence, number, and location of FASI areas and cognitive deficits. Moreover, there may be a major bias. In our cohort, MR imaging was mainly performed for symptoms. Thus, we may have missed a substantial number of FASI in children without neurological manifestations. Recent studies in individuals with NF1 suggest that diffusion tensor imaging (DTI) identifies microstructural alterations which may be related to the cognitive phenotype [57]. In addition, it may help to assess optic pathway integrity. These developments may help parental counselling regarding their child's prognosis in the future.

LGGs are the most common childhood brain tumour in the general population [58] and in individuals with the NF1 cancer predisposition syndrome [12,13]. The majority of LGG arises in the optic pathways [12, 13,59], and our NF1 cohort demonstrated the variable, but often extensive involvement of all segments [24,60]. Though asymptomatic in a portion of patients, we confirmed a high prevalence of brain tumours in our cohort [61]. The large number of OPGs and other LGGs following radiologic investigation in a subgroup of patients only may also reflect the recruitment bias of a university based paediatric oncology centre [59]. There is debate concerning the indication for routine diagnostic imaging in asymptomatic patients in this at-risk population of children [59,62], but during follow-up more than half of our patients required treatment for visual deterioration and/or radiologic progression emphasizing the need for appropriate oncologic surveillance [59–61]. However, it should not go unmentioned that baseline MRI without follow-up is of minimal value, as a negative baseline MRI does not exclude future development of a LGG [63,64]. Moreover, Blanchard and colleagues did not find a clear benefit of systematic MRI in children with NF1 [65]. In line with this, in the recently published tumour surveillance guidelines for individuals with neurofibromatosis type 1 by the European Reference Network on Genetic Tumour Risk Syndromes (ERN GENTURIS) NF1 tumour management guideline group routine MR imaging in asymptomatic children is not recommended [66].

To date, only 4 clinically confirmed genotype-phenotype correlations in patients with NF1 were reported, relevant to 10–15% of the NF1 population [67]. In our cohort, a 5.15 Mb microdeletion 17q11.2q12 encompassing the *NF1* gene was identified in one severely affected

patient. No other variants with an established genotype-phenotype correlation were identified. Yet, no association of genotype and neurological severity was established.

Our study has several limitations.

- Our approach was based on retrospective chart review. Important information may not have been fully documented. In particular, we considered a sign not present if no information was provided. In so doing, chances are that we missed neurological manifestations and, thus, underestimated CNS manifestations in children and adolescents with NF1.
- Routine MRI for surveillance in children and adolescents is still controversially discussed. Thus, indication for brain MRI varied. In addition, MRI is not standardized across different institutions leading to failures in image analyses.
- Only patients with LGG underwent neuropsychological testing. Thus, data on neuropsychological testing is not representative for the entire NF1 cohort.
- Genetic information was only available in 21 of 26 patients with genetically confirmed diagnosis of NF1.

5. Conclusion

Neurofibromatosis type 1 was associated with a spectrum of CNS manifestations in at least 83.0% children and adolescents. About a quarter of patients were affected by neurocognitive deficits. This highlights the need for regular neuropsychological assessment complementing frequent clinical and ophthalmologic testing for OPG in the care of each child with NF1 within multidisciplinary management programs. Besides the established *NF1* microdeletion, neither genotype nor FASI number, volume, and location were associated with the neurological phenotype in our cohort.

Ethics declaration

The study was approved by the ethics committee of Ludwig Maximilian University Munich, Germany (approval number, 21–1103). Due to the retrospective manner of the study written informed consent was not obtained.

Declaration of competing interest

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgements

This work was supported by the PLGA Fund at the Pediatric Brain Tumor Foundation of the United States, Inc.. The research of MK on hereditary cancer predisposition is supported by research funding of the Medical Faculty, University Augsburg, Germany. This work was partly done within the Zentrum für Seltene Erkrankungen of the University Hospital Düsseldorf (ZSED). One of the authors of this publication (D. W.) is member of the European Reference Network on Rare Congenital Malformations and Rare Intellectual Disability ERN-ITHACA [EU Framework Partnership Agreement ID: 3HP-HP-FPA ERN-01-2016/739516].

Parts of this work were presented as a poster presentation at the 20th International Symposium on Pediatric Neuro-Oncology, Hamburg, Germany, 12 – 15 June 2022 and as an oral presentation at the Deutsche Gesellschaft für Kinder- und Jugendmedizin e.V. annual meeting, Düsseldorf, Germany, 7 – 10 September 2022.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2023.02.006>.

References

- [1] D.H. Gutmann, R.E. Ferner, R.H. Listernick, B.R. Korf, P.L. Wolters, K.J. Johnson, Neurofibromatosis type 1, *Nat. Rev. Dis. Prim.* 3 (2017), 17004.
- [2] C. Barrea, S. Vaessen, S. Bulk, J. Harvengt, J.P. Misson, Phenotype-genotype correlation in children with neurofibromatosis type 1, *Neuropediatrics* 49 (2018) 180–184.
- [3] Neurofibromatosis. Conference statement. National Institutes of health consensus development conference, *Arch. Neurol.* 45 (1988) 575–578.
- [4] E. Legius, L. Messiaen, P. Wolkenstein, et al., Revised diagnostic criteria for neurofibromatosis type 1 and Legius syndrome: an international consensus recommendation, *Genet. Med. : official journal of the American College of Medical Genetics* 23 (2021) 1506–1513.
- [5] S.B. Sanchez Marco, J. Lopez Pison, C. Calvo Escribano, I. Gonzalez Viejo, M. D. Miramar Gallart, P. Samper Villagrasa, Neurological manifestations of neurofibromatosis type 1: our experience, *Neurologia* 37 (2021) 325–333.
- [6] J. Lorenzo, B. Barton, M.T. Acosta, K. North, Mental, motor, and language development of toddlers with neurofibromatosis type 1, *J. Pediatr.* 158 (2011) 660–665.
- [7] M. Heimgartner, S. Granstrom, K. Haas-Lude, R.A. Learch, V.F. Mautner, K. Lidzba, Attention deficit predicts intellectual functioning in children with neurofibromatosis type 1, *Int. J. Pediatr.* 2019 (2019), 9493837.
- [8] A. Lehtonen, S. Garg, S.A. Roberts, et al., Cognition in children with neurofibromatosis type 1: data from a population-based study, *Dev. Med. Child Neurol.* 57 (2015) 645–651.
- [9] A.C. Vogel, D.H. Gutmann, S.M. Morris, Neurodevelopmental disorders in children with neurofibromatosis type 1, *Dev. Med. Child Neurol.* 59 (2017) 1112–1116.
- [10] A. Roy, J.L. Roulin, C. Gras-Le Guen, M.L. Corbat, S. Barbarot, Executive functions and quality of life in children with neurofibromatosis type 1, *Orphanet J. Rare Dis.* 16 (2021) 420.
- [11] S.M. Morris, M.T. Acosta, S. Garg, et al., Disease burden and symptom structure of autism in neurofibromatosis type 1: a study of the international NF1-ASD consortium team (INFact), *JAMA Psychiatr.* 73 (2016) 1276–1284.
- [12] P. Hernaiz Driever, S. von Hornstein, T. Pietsch, et al., Natural history and management of low-grade glioma in NF-1 children, *J. Neuro Oncol.* 100 (2010) 199–207.
- [13] M.J. Fisher, D.T.W. Jones, Y. Li, et al., Integrated molecular and clinical analysis of low-grade gliomas in children with neurofibromatosis type 1 (NF1), *Acta Neuropathol.* 141 (2021) 605–617.
- [14] J. Mahdi, M.S. Goyal, J. Griffith, S.M. Morris, D.H. Gutmann, Nonoptic pathway tumors in children with neurofibromatosis type 1, *Neurology* 95 (2020) e1052–e1059.
- [15] J. Mahdi, A.C. Shah, A. Sato, et al., A multi-institutional study of brainstem gliomas in children with neurofibromatosis type 1, *Neurology* 88 (2017) 1584–1589.
- [16] M. Koczkowska, T. Callens, A. Gomes, 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.* 21 (2019) 867–876.
- [17] K. Rojueangnit, J. Xie, A. Gomes, et al., High incidence of Noonan syndrome features including short stature and pulmonic stenosis in patients carrying NF1 missense mutations affecting p.Arg1809: genotype-phenotype correlation, *Hum. Mutat.* 36 (2015) 1052–1063.
- [18] C.K. Svensson, R.K. Drobitch, K.A. Kloss, Effect of glutathione depletion on the in vivo inhibition of drug metabolism by agents forming an inactive cytochrome P-450 Fe(II):metabolite complex. Studies with amiodarone and troleandomycin, *J. Pharm Sci* 80 (1991) 225–228.
- [19] M. Koczkowska, Y. Chen, T. Callens, 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.* 102 (2018) 69–87.
- [20] O. Piscitelli, M.C. Digilio, R. Capolino, D. Longo, V. Di Ciommo, Neurofibromatosis type 1 and cerebellar T2-hyperintensities: the relationship to cognitive functioning, *Dev. Med. Child Neurol.* 54 (2012) 49–51.
- [21] C. Chabernaud, D. Sirinelli, C. Barbier, et al., Thalamo-striatal T2-weighted hyperintensities (unidentified bright objects) correlate with cognitive impairments in neurofibromatosis type 1 during childhood, *Dev. Neuropsychol.* 34 (2009) 736–748.
- [22] A. Parmeggiani, F. Boiani, S. Capponi, et al., Neuropsychological profile in Italian children with neurofibromatosis type 1 (NF1) and their relationships with neuroradiological data: preliminary results, *Eur. J. Paediatr. Neurol.* 22 (2018) 822–830.
- [23] T. Traunwieser, D. Kandels, F. Pauls, et al., Long-term cognitive deficits in pediatric low-grade glioma (LGG) survivors reflect pretreatment conditions-report from the German LGG studies, *Neurooncol Adv* 2 (2020) vdaa094.
- [24] T. Taylor, T. Jaspan, G. Milano, et al., Radiological classification of optic pathway gliomas: experience of a modified functional classification system, *Br. J. Radiol.* 81 (2008) 761–766.
- [25] F. Isensee, M. Schell, I. Pfleger, et al., Automated brain extraction of multisquence MRI using artificial neural networks, *Hum. Brain Mapp.* 40 (2019) 4952–4964.
- [26] D. Angelova-Toshkina, J. Holzapfel, S. Huber, et al., Neurofibromatosis type 1: a comparison of the 1997 NIH and the 2021 revised diagnostic criteria in 75 children and adolescents, *Genet. Med.* 24 (2022) 1978–1985.
- [27] T.L. Rosser, G. Vezina, R.J. Packer, Cerebrovascular abnormalities in a population of children with neurofibromatosis type 1, *Neurology* 64 (2005) 553–555.
- [28] P.S. Ghosh, A.D. Rothner, T.M. Emch, N.R. Friedman, M. Moodley, Cerebral vasculopathy in children with neurofibromatosis type 1, *J. Child Neurol.* 28 (2013) 95–101.
- [29] D. Rea, J.F. Brandsema, D. Armstrong, et al., Cerebral arteriopathy in children with neurofibromatosis type 1, *Pediatrics* 124 (2009) e476–e483.
- [30] A.G. Cairns, K.N. North, Cerebrovascular dysplasia in neurofibromatosis type 1, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 79 (2008) 1165–1170.
- [31] C.A. Schutt, E. Sargent, P. Kabolizadeh, I.S. Grills, J. Jacob, Proton beam radiation-induced glioblastoma multiforme, *J. Neurosurg. Sci.* 63 (2019) 609–610.
- [32] N.J. Ullrich, R. Robertson, D.D. Kinnamon, et al., Moyamoya following cranial irradiation for primary brain tumors in children, *Neurology* 68 (2007) 932–938.
- [33] E.A. Soucy, F. Gao, D.H. Gutmann, C.M. Dunn, Developmental delays in children with neurofibromatosis type 1, *J. Child Neurol.* 27 (2012) 641–644.
- [34] B.A. Johnson, B.A. MacWilliams, J.C. Carey, D.H. Viskochil, J.L. D'Astous, D. A. Stevenson, Motor proficiency in children with neurofibromatosis type 1, *Pediatr. Phys. Ther.* 22 (2010) 344–348.
- [35] S. Garg, J. Green, K. Leadbitter, et al., Neurofibromatosis type 1 and autism spectrum disorder, *Pediatrics* 132 (2013) e1642–e1648.
- [36] K.S. Walsh, J.I. Velez, P.G. Kardel, et al., Symptomatology of autism spectrum disorder in a population with neurofibromatosis type 1, *Dev. Med. Child Neurol.* 55 (2013) 131–138.
- [37] K.E. Schwetey, D.H. Gutmann, Cognitive and behavioral problems in children with neurofibromatosis type 1: challenges and future directions, *Expert Rev. Neurother.* 14 (2014) 1139–1152.
- [38] S.L. Hyman, A. Shores, K.N. North, The nature and frequency of cognitive deficits in children with neurofibromatosis type 1, *Neurology* 65 (2005) 1037–1044.
- [39] L.C. Krab, R. Oostenbrink, A. de Goede-Bolder, F.K. Aarsen, Y. Elgersma, H.A. Moll, Health-related quality of life in children with neurofibromatosis type 1: contribution of demographic factors, disease-related factors, and behavior, *J. Pediatr.* 154 (2009) 420–425, 425 e421.
- [40] K. North, S. Hyman, B. Barton, Cognitive deficits in neurofibromatosis type 1, *J. Child Neurol.* 17 (2002) 605–612, discussion 627–609, 646–651.
- [41] N. Pride, J.M. Payne, R. Webster, E.A. Shores, C. Rae, K.N. North, Corpus callosum morphology and its relationship to cognitive function in neurofibromatosis type 1, *J. Child Neurol.* 25 (2010) 834–841.
- [42] G.T. Armstrong, H.M. Conklin, S. Huang, et al., Survival and long-term health and cognitive outcomes after low-grade glioma, *Neuro Oncol.* 13 (2011) 223–234.
- [43] A.J. Silva, P.W. Frankland, Z. Marowitz, et al., A mouse model for the learning and memory deficits associated with neurofibromatosis type I, *Nat. Genet.* 15 (1997) 281–284.
- [44] K. Lidzba, S. Granstrom, J. Lindenau, V.F. Mautner, The adverse influence of attention-deficit disorder with or without hyperactivity on cognition in neurofibromatosis type 1, *Dev. Med. Child Neurol.* 54 (2012) 892–897.
- [45] C. Barba, T. Jacques, P. Kahane, et al., Epilepsy surgery in neurofibromatosis type 1, *Epilepsy Res.* 105 (2013) 384–395.
- [46] K. Kulankrakorn, T.J. Geller, Seizures in neurofibromatosis 1, *Pediatr. Neurol.* 19 (1998) 347–350.
- [47] P. Bernardo, G. Cinalli, C. Santoro, Epilepsy in NF1: a systematic review of the literature, *Childs Nerv Syst* 36 (2020) 2333–2350.
- [48] J. Gales, R.A. Prayson, Hippocampal sclerosis and associated focal cortical dysplasia-related epilepsy in neurofibromatosis type I, *J. Clin. Neurosci.* 37 (2017) 15–19.
- [49] C.H. Liu, Y.W. Lin, N.Y. Tang, H.J. Liu, C.L. Hsieh, Neuroprotective effect of uncaria rhynchophylla in kainic acid-induced epileptic seizures by modulating hippocampal mossy fiber sprouting, neuron survival, astrocyte proliferation, and S100B expression, *Evid Based Complement Alternat Med* 2012 (2012), 194790.
- [50] A. Pecoraro, E. Arehart, W. Gallentine, et al., Epilepsy in neurofibromatosis type 1, *Epilepsy Behav.* 73 (2017) 137–141.

- [51] D.J. Craik, K.A. Higgins, Comparison of ¹H NMR chemical shifts of bovine and human insulins, *Pept. Res.* 4 (1991) 177–186.
- [52] J.M. Payne, T. Pickering, M. Porter, et al., Longitudinal assessment of cognition and T2-hyperintensities in NF1: an 18-year study, *Am. J. Med. Genet.* 164A (2014) 661–665.
- [53] R. Feldmann, G. Schuierer, A. Wessel, N. Neveling, J. Weglage, Development of MRI T2 hyperintensities and cognitive functioning in patients with neurofibromatosis type 1, *Acta Paediatr.* 99 (2010) 1657–1660.
- [54] B.D. Moore, J.M. Slopis, D. Schomer, E.F. Jackson, B.M. Levy, Neuropsychological significance of areas of high signal intensity on brain MRIs of children with neurofibromatosis, *Neurology* 46 (1996) 1660–1668.
- [55] A. Roy, S. Barbarot, V. Charbonnier, et al., Examining the frontal subcortical brain vulnerability hypothesis in children with neurofibromatosis type 1: are T2-weighted hyperintensities related to executive dysfunction? *Neuropsychology* 29 (2015) 473–484.
- [56] N.S. Eby, J.L. Griffith, D.H. Gutmann, S.M. Morris, Adaptive functioning in children with neurofibromatosis type 1: relationship to cognition, behavior, and magnetic resonance imaging, *Dev. Med. Child Neurol.* 61 (2019) 972–978.
- [57] G. Ertan, E. Zan, D.M. Yousem, et al., Diffusion tensor imaging of neurofibromatosis bright objects in children with neurofibromatosis type 1, *NeuroRadiol. J.* 27 (2014) 616–626.
- [58] A.K. Gnekow, D. Kandels, T. Pietsch, et al., Doubling recruitment of pediatric low-grade glioma within two decades does not change outcome - report from the German LGG studies, *Klin. Pädiatr.* 233 (2021) 107–122.
- [59] L.N. Lohkamp, P. Parkin, A. Puran, et al., Optic pathway glioma in children with neurofibromatosis type 1: a multidisciplinary entity, posing dilemmas in diagnosis and management multidisciplinary management of optic pathway glioma in children with neurofibromatosis type 1, *Front Surg* 9 (2022), 886697.
- [60] A.A. Azizi, D.A. Walker, J.F. Liu, et al., NF1 optic pathway glioma: analyzing risk factors for visual outcome and indications to treat, *Neuro Oncol.* 23 (2021) 100–111.
- [61] J.L. Griffith, S.M. Morris, J. Mahdi, M.S. Goyal, T. Hershey, D.H. Gutmann, Increased prevalence of brain tumors classified as T2 hyperintensities in neurofibromatosis 1, *Neurol Clin Pract* 8 (2018) 283–291.
- [62] D.G.R. Evans, H. Salvador, V.Y. Chang, et al., Cancer and central nervous system tumor surveillance in pediatric neurofibromatosis 1, *Clin. Cancer Res.* 23 (2017) e46–e53.
- [63] M. Cassina, L. Frizziero, E. Opocher, et al., Optic pathway glioma in type 1 neurofibromatosis: review of its pathogenesis, diagnostic assessment, and treatment recommendations, *Cancers* 11 (2019).
- [64] R. Listernick, R.E. Ferner, G.T. Liu, D.H. Gutmann, Optic pathway gliomas in neurofibromatosis-1: controversies and recommendations, *Ann. Neurol.* 61 (2007) 189–198.
- [65] G. Blanchard, M.P. Lafforgue, L. Lion-Francois, et al., Systematic MRI in NF1 children under six years of age for the diagnosis of optic pathway gliomas. Study and outcome of a French cohort, *Eur. J. Paediatr. Neurol.* 20 (2016) 275–281.
- [66] C. Carton, D.G. Evans, I. Blanco, et al., ERN GENTURIS tumour surveillance guidelines for individuals with neurofibromatosis type 1, *EClinicalMedicine* 56 (2023), 101818.
- [67] C. Bettgowda, M. Upadhyaya, D.G. Evans, et al., Genotype-phenotype correlations in neurofibromatosis and their potential clinical use, *Neurology* 97 (2021) S91–S98.