

Tommi Frang

NF1-GEENIN PATOGEENISTEN VARIANTTIEN YHTEYS SYDÄN- JA VERENKIERTOELIMISTÖN SAIRAUKSIIN
TYYPIN 1 NEUROFIBROMATOOSISSA

Syventävien opintojen kirjallinen työ

Kevätlukukausi 2024

Tommi Frang

NF1-GEENIN PATOGEENISTEN VARIANTTIEN YHTEYS SYDÄN- JA VERENKIERTOELIMISTÖN SAIRAUKSIIN
TYYPIN 1 NEUROFIBROMATOOSISSA

Biolääketieteen laitos

Kevätlukukausi 2024

Vastuhenkilöt: Juha Peltonen, Roope Kallionpää, Niina Loponen

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin
OriginalityCheck -järjestelmällä

TURUN YLIOPISTO

Lääketieteellinen tiedekunta

FRANG, TOMMI: NF1-geenin patogeenisten varianttien yhteys sydän- ja verenkiertoelimistön sairauksiin tyypin 1 neurofibromatoosissa

Syventävien opintojen kirjallinen työ, 30 s.

Solubiologia ja anatomia

Maaliskuu 2024

Tyypin 1 neurofibromatoosi (NF1) on vallitsevasti periytyvä harvinaissairaus, joka aiheutuu *NF1*-geenin mutaatioista. NF1:een on havaittu liittyvän sydän- ja verenkiertoelimistön sairauksia, kuten verisuonitautia, verenpainetautia ja synnynnäisiä epämuodostumia. Kaikkien verenkiertoelimistön sairauksien yhteyttä NF1:een ei kuitenkaan tunneta. Myös tieto *NF1*-mutaation tyypin yhteydestä taudinkuvaan on puutteellista. Tässä työssä tarkoituksena on täydentää suomalaista neurofibromatoosikohorttia varmistamalla NF1-diagnooseja ja keräämällä tietoja kliinisesti tehdyistä *NF1*-geenin mutaatioanalyseistä. Tavoitteena on tarkastella eri *NF1*-mutaatioiden yhteyttä sydän- ja verisuonisairauksien riskiin. Aiemmin muodostettuun kohorttiin lisättiin vuoden 2011 jälkeen neurofibromatoosidiagnoosilla keskustai yliopistosairaaloissa käyneitä, ja kohorttiin kuuluvilta kirjattiin todetut *NF1*-mutaatiot, niiden sijainti sekä tyypit. THL:n hoitoilmoitusjärjestelmästä haettiin sydän- ja verisuonisairauksiin liittyvät diagnoosit NF1-potilaille, joiden *NF1*-mutaatio oli tiedossa. Diagnoosien esiintymistä verrattiin eri mutaatiotyyppien välillä sekä mikroleetioiden ja muiden mutaatiotyyppien välillä. Lisäksi tarkasteltiin vaikuttaako mutaation sijainti geenissä sydän- ja verisuonisairauksien diagnoosien esiintymiseen. Erikseen tarkasteltiin myös tunnettuihin genotyyppi-fenotyyppi-korrelaatioihin liittyvien mutaatioiden yhteyttä sydän- ja verenkiertoelimistön sairauksiin.

Potilaita, joilla oli sekä mutaatio- että hoitoilmoitusjärjestelmätietoja saatavilla löytyi yhteensä 217. Heistä 12 potilaalla oli jokin sydän- ja verenkiertoelimistön sairauden diagnoosi. Mutaatiotyyppi ei ollut merkitsevästi yhteydessä siihen, oliko potilaalla jokin sydän- ja verenkiertoelimistön sairauden diagnoosi. Mutaation sijainnilla ei ollut merkitsevää yhteyttä diagnoosin esiintymiseen. Merkitsevää eroa sydän- ja verenkiertoelimistöön liittyvien diagnoosien esiintymisessä ei myöskään havaittu mikroleetiopotilaiden ja muiden potilaiden välillä. Aiemmin tietynlaiseen ilmiösuun liittyviksi kuvattujen mutaatioiden kantajilla ei havaittu sydän- ja verenkiertoelimistön sairauksien diagnooseja.

Tässä tutkielmassa ei havaittu eroja sydän- ja verenkiertoelimistön sairauksien esiintyvyydessä eri mutaatiotyyppien välillä. Usein *NF1*-mutaatioanalyysi tehdään nuorella iällä, mikä voi osaltaan selittää vähäistä sydän- ja verisuonisairauksien määrää aineistossa. Iäkkäämpien potilaiden aineisto sekä pitkäaikainen seuranta voivat tuoda parempaa tietoa tulevaisuudessa.

Avainsanat: Genotyyppi-fenotyyppi -korrelaatio, kardiovaskulaarisairaudet, neurofibromatoosi

Sisällys

Johdanto.....	1
Neurofibromatoosi 1	1
Diagnostiset kriteerit ja oheissairastavuus.....	2
Genotyyppi-fenotyyppi-korrelaatiot NF1:ssä.....	5
Neurofibromatoosi 1 ja sydän- ja verenkiertoelimistön löydökset	8
NF1:een liittyvä verisuonitauti	9
Synnynnäiset sydän- ja verenkiertoelimistön löydökset.....	10
Verenpaine	11
Infarktit ja ateroskleroosi	14
Aineisto ja menetelmät.....	15
Tulokset	16
Mutaatitietojen kerääminen ja neurofibromatoosirekisterin täydentäminen.....	16
NF1-mutaation yhteys sydän- ja verenkiertoelimistön sairauksiin	17
Pohdinta	20
Lähteet.....	22

Johdanto

Neurofibromatoosi 1

Neurofibromatoosi 1 (NF1) on perinnöllinen hyvän- ja pahanlaatuisille kasvaimille altistava hermo- ja sidekudosoireyhtymä, joka johtuu *NF1*-geenin mutaatioista (Gutmann ym. 2017). Sairaus periytyy autosomaalisesti vallitsevasti, eli jo yhden alleelin mutaatio aiheuttaa NF1:n (Jouhilahti ym. 2011). Täten sairaan vanhemman lapsella on 50 prosentin mahdollisuus periä sairaus vanhemmaltaan. Noin puolella potilaista sairaus on kuitenkin peräisin uudesta (de novo) mutaatiosta, jolloin heidän vanhempansa ovat terveitä (Peltonen ym. 2014). Oireyhtymän penetranssi on 100 %, joten kaikilla patogeenista *NF1*-varianttia kantavilla potilailla on NF1 (Huson ym. 1989, Jouhilahti ym. 2011).

Taudin prevalenssina eli vallitsevuutena on pidetty maailmanlaajuisesti noin yhtä tapausta kolmea tuhatta ihmistä kohden, mutta se vaihtelee eri aineistoissa välillä 1/960 ja 1/7812 (Uusitalo ym. 2015, Gutmann ym. 2017). Suomessa esiintyvyydeksi on arvioitu 1/2052 (Kallionpää ym. 2018). Insidenssi eli ilmaantuvuus on myös suomalaisarvion mukaan suurempi kuin usein esitetty 1/3000, ollen lähempänä arvoa 1/2000. NF1 vaikuttaa siis ainakin Suomessa olevan yleisempi oireyhtymä kuin aikaisemmin on ajateltu (Uusitalo ym. 2015, Kallionpää ym. 2018).

NF1-geeni koodittaa proteiinia nimeltä neurofibromiini. Geeni sijaitsee kromosomissa 17, lokuksessa q11.2 ja on kooltaan suuri, noin 280 000 emäsparia. *NF1*-geeniin kohdistuvien uusien mutaatioiden frekvenssin on havaittu olevan suuri. Neurofibromiini toimii kasvunrajoitevalkuaisena eli tuumorisuppressoriproteiinina ja se säätelee solun kasvulle ja jakautumiselle keskeistä RAS-signaalintietä. (Jouhilahti ym. 2011.) Neurofibromiinilla on havaittu olevan RAS-GAP-toiminnallisuus (RAS-GTPase activating protein), eli se kiihdyttää RAS-proteiinin muuttumista aktiivisesta GTP:tä sitoneesta muodosta inaktiiviseen, GDP:tä sitoneeseen muotoon (Basu ym.1992, Dasgupta ym. 2005). Neurofibromatoosi 1 kuuluu siis RASopatioihin, joissa RAS-signaalintireitti on synnynnäisesti yliaktiivinen. Muita tällaisia sairauksia ovat muun muassa Noonanin ja Costellon oireyhtymät, sekä neurofibromatoosi 1:lle erotusdiagnostinen Legiuksen oireyhtymä. RAS-signaalintietien poikkeavalla toiminnalla on monenlaisia ilmenemistapoja, kuten synnynnäiset epämuodostumat, kehityksen viiveet ja kasvaimille altistuminen. (Tajan ym. 2018.) Neurofibromiinia

ilmennetään monissa eri solutyypeissä, kuten hermosoluissa, gliasoluissa, immuunijärjestelmän soluissa, lisämunuaisytimen soluissa ja endoteelisoluissa, mutta sen tehtävien arvellaan olevan erilaisia eri soluissa (Gutmann ym. 2017). Erityisesti neurofibromiinia ilmentyy hermoston alueella.

NF1-geenin mutaatioanalyysi on aikaisemmin ollut haastavaa ja sen vuoksi vähän käytettyä. Nykyään analyysijä on yleisesti saatavilla, mikä tarjoaa oleellisen edun etenkin sellaisten potilaiden diagnosoinnissa, joiden oireet ovat lievät, epäselvät, tai jotka eivät vielä täytä perinteisiä diagnostisia kriteerejä (Peltonen ym. 2014, Gutmann ym. 2017, Legius ym. 2021). Geenitesti tarjoaa apua myös erotusdiagnostiikkaan ja Legiuksen oireyhtymän diagnosointiin (Legius ym. 2021). Geenitutkimuksella ei kuitenkaan ole välttämättä ennusteellista arvoa, sillä *NF1*:n genotyyppi-fenotyyppi-korrelaatioista tiedetään toistaiseksi kovin vähän. Oirekuva vaihtelee suurestikin eri potilaiden välillä, ja jopa saman patogeenisen variantin omaavat henkilöt voivat erota kliiniseltä taudinkuvaltaan (Koczkowska ym. 2018).

Diagnostiset kriteerit ja oheissairastavuus

NF1-diagnoosi on pitkään tehty käyttämällä NIH:n (National Institutes of Health) vuonna 1987 asettamia kansainvälisiä kriteereitä, joista kahden tai useamman tulee täytyä diagnoosin tekemiseksi:

- Kuusi tai useampia maitokahviläiskiä (cafe au lait -macules), jotka ovat ennen murrosikää vähintään 5 mm halkaisijaltaan, ja murrosiän jälkeen vähintään 15 mm halkaisijaltaan
- Kaksi tai useampia neurofibroomia tai yksikin pleksiforminen neurofibrooma
- Kainaloiden tai nivusten kesakot
- Kaksi tai useampia Lischin noduluksia silmän värikalvolla
- Näköhermon gliooma
- Tyypillinen luustomuutos, kuten kitaluun (os sphenoidale) silmäkuoppaa muodostavan siiven kehityshäiriö, tai pitkän luun ohentuma tai paksunema, valenivelellä tai ilman. Tavallisimmin valenivel esiintyy sääriluussa.
- Ensimmäisen asteen sukulaisen *NF1*-tauti, joka on diagnosoitu yllämainituin kriteerein.

Nämä kriteerit on todettu toimiviksi. On kuitenkin arvioitu, että uudesta mutaatiosta johtuvaa tautia sairastavista henkilöistä noin 46 % ei täytä diagnostisia kriteereitä yhden vuoden ikään mennessä. Kuitenkin lähes kaikki heistä täyttävät kriteerit

myöhemmin, kahdeksan vuoden iässä. (DeBella ym. 2000.) Diagnosoinnissa on siis omat haasteensa etenkin nuorten lasten kohdalla. Kriteereitä onkin päivitetty niin, että tiettyjä kohtia on tarkennettu ja uudeksi kriteeriksi on nostettu patogeenisen *NF1*-variantin löytyminen. Ihomuutosten suhteen kriteerejä on tarkennettu niin, että joko maitokahviläiskien tai taivealueiden kesakoiden tulisi olla molemminpuolisia. Diagnostisiin silmälöydöksiin on lisätty kaksi tai useampia suonikalvon epänormaaleja löydöksiä (choroidal abnormalities). Ensimmäisen asteen sukulaisten sairauksista vain vanhemman sairaus on enää diagnostinen (Legius ym. 2021).

Selvimmän näkyvät tyypin 1 neurofibromatoosin tunnusmerkit ovat iholla: maitokahviläiskät, ihon neurofibroomat ja taivealueiden kesakot ovat tunnusomaisia ja todettavissa helpolla silmämääräisellä tutkimuksella (Jouhilahti ym. 2011, Peltonen ym. 2014). Maitokahviläiskät ovat tyypillisesti tarkkarajaisia, muuta ihoa tummempia alueita, jotka ovat keskimäärin 2-5 cm kooltaan. Ne koostuvat melanosyyteistä, joissa on ituratamutaation lisäksi toinen, somaattinen *NF1*-mutaatio, niin sanottu second hit. Näin ollen maitokahviläiskien melanosyyteissä molemmat *NF1*-alleelit ovat inaktivoituneet (Jouhilahti ym. 2011, Gutmann ym. 2017). Maitokahviläiskä voi näkyä jo syntymähetkellä, mutta useammin ne ilmestyvät varhaisen lapsuuden aikana. Maitokahviläiskä voi olla yksittäisinä myös terveillä ihmisillä, jolloin puhutaan syntymämerkeistä, mutta kuusi tai useampi täyttää jo yhden *NF1*:n diagnostisen kriteerin (Peltonen ym. 2014). On havaittu, että suurin osa potilaista, joilla aluksi on yli kuusi maitokahviläiskää mutta ei muita oireita, täyttävät diagnostiset kriteerit kuuteen ikävuoteen mennessä (Nunley ym. 2009). Kainaloiden ja nivusalueiden kesakot ovat myös *NF1*:lle tunnusomaisia piirteitä, sillä ne ovat paikoissa jotka eivät altistu auringonvalolle. Lisäksi kesakoita voi olla laajemmin vartalolla ja usein rintojen alla (Peltonen ym. 2014).

Runsaana esiintyvät ihon neurofibroomat ovat yksi *NF1*:n tunnusmerkeistä, ja ne saattavat aiheuttaa myös suuren tautitaakan ja merkittävää epämukavuutta potilaalle (Ortonne ym. 2018). Neurofibroomat alkavat usein olla kliinisesti havaittavissa murrosiän jälkeen (Peltonen ym. 2014). Histologisesti ne koostuvat muun muassa Schwannin soluista, mast-soluista, fibroblasteista, aksoneista ja kollageenipitoisesta sidekudoksesta (Peltonen ym. 2014, Ortonne ym. 2018). Schwannin solut ovat neurofibroomien neoplastinen komponentti, ja niissä on havaittu molempien *NF1*-alleelien inaktivoituminen second hit -mutaation johdosta (Jouhilahti ym. 2011, Ortonne ym. 2018). Ihon neurofibroomiin ei liity pahanlaatuistumisriskiä (Jouhilahti ym. 2011).

Pleksiformiset neurofibroomat ovat histologisesti ihon neurofibroomia vastaavia, ja koostuvat siis samoista komponenteista (Pemov ym. 2017). Ne ovat kuitenkin synnynnäisiä, kasvavat pitkin suurempia hermorunkoja ja saattavat kasvaa suuriksikin. Toisin kuin ihon neurofibroomiin, pleksiformisiin neurofibroomiin liittyy pahanlaatuistumisriski (Jouhilahti ym. 2011, Peltonen ym. 2014).

Lischin nodulukset ovat iiriksessä eli silmän värikalvolla esiintyviä muutoksia. Ne eivät aiheuta oireita eivätkä vaikuta näköön, mutta kaksi tai useampia muutoksia täyttää yhden NF1:n diagnostisen kriteerin. Niitä on valtaosalla aikuisista potilaista, ja ne kehittyvät yleensä 5-6 vuoden ikään mennessä. (DeBella ym. 2000, Peltonen ym. 2014, Legius ym 2021.)

Näköhermon glioomat (optic glioma, n.opticuksen reitillä kasvava pilosyyttinen astrozytooma) ja muutkin keskushermoston kasvaimet ovat mahdollisia NF1-löydöksiä. Noin 15-20 %:lle NF1-potilaista kehittyy näköhermon gliooma, mutta kaikilla se ei aiheuta oireita. Mahdollisia oireita ovat muun muassa näkökyvyn heikkeneminen, karsastus tai kasvaimen suuren koon mekaanisesti aiheuttamat aivo- ja selkäydinnesteen kierron häiriöt. Tavallisimmin kasvain kehittyy jo nuorena lapsena, seitsemään ikävuoteen mennessä, mutta on todettu myös myöhemmin kehittyneitä näköhermon glioomia. (Peltonen ym. 2014, Campen ym. 2018.) Histologisesti kyseessä on yleensä matalan graduksen pilosyyttinen astrozytooma (Gutmann ym. 2017, Campen ym. 2018).

Tyypin 1 neurofibromatoosiin liittyy luustomuutoksia, kuten pitkien luiden kehityshäiriöitä, jota esiintyy pienellä osalla NF1-potilaista. Yleensä kehityshäiriö esiintyy sääriluussa ja se ilmenee luun kaartumisena eteen ja sivulle, kun pieni lapsi opettelee kävelemään. Tällainen luu voi murtua, mikä voi johtaa valenivelen syntyyn (Elefteriou ym. 2009). Valenivelissä on havaittu molempien *NF1*-alleelien inaktivaatio joko osteoklasteissa tai osteoblasteissa, tai molemmissa (Stevenson ym. 2006, Gutmann ym. 2017). Muita mahdollisia luustoon liittyviä löydöksiä ovat kitaluun siiven kehityshäiriö, sekä dystrofinen tai ei-dystrofinen skolioosi, mutta skolioosi ei kuulu diagnostisiin kriteereihin (Elefteriou ym. 2009).

Neurofibromatoosi 1:een liittyy merkittävää oheissairastavuutta, etenkin syöpätautien, mutta myös monien muiden sairauksien osalta. Kuolleisuus on muuta väestöä suurempi, suureksi osaksi johtuen syöpäkuolemista (Uusitalo ym. 2015). NF1-potilailla on kaksinkertainen riski sairastua syöpään verrattuna muuhun väestöön, ja he

sairastuvat muuta väestöä aikaisemmin. Syövän ennuste NF1:ssä on usein myös muuta väestöä huonompi (Uusitalo ym. 2016). Erityisen tyypillisiä neurofibromatoosi 1:lle ovat side- ja pehmytkudoksen, aivojen ja muun hermoston alueen pahanlaatuiset kasvaimet (Uusitalo ym. 2016), joiden runsaasti muuta väestöä suurempi esiintyvyys on havaittu monessa kuolinsyihin perustuvassa tutkimuksessa (Rasmussen ym. 2001, Masocco ym. 2011). Tyypillisiä tyypin 1 neurofibromatoosiin liittyviä kasvaimia ovat MPNST:t (malignant peripheral nerve sheath tumor, pahanlaatuinen perifeerisen hermotupen kasvain), rintasyövät, GIST:t (gastrointestinal stromal tumor), glioomat ja feokromosytoomat (Uusitalo ym. 2016, Gutmann ym. 2017, Kallionpää ym. 2017). Harvinaisten leukemioiden, kuten JCML:n (juvenile chronic myelogenous leukaemia) ja JMML:n (juvenile myelomonocytic leukaemia) riskin on esitetty olevan NF1-potilailla suurentunut, mutta yhteyttä ei ole vakuuttavasti osoitettu (Uusitalo ym. 2016, Kallionpää ym. 2017). Yksittäisistä kasvaintyypeistä MPNST:t eli pahanlaatuiset perifeerisen hermotupen kasvaimet ovat NF1:lle tyypillisiä, mutta hyvin harvinaisia muussa väestössä, joten niiden esiintyvyys NF1-potilailla on huomattavasti suurempaa kuin väestössä (Evans ym. 2011).

Lieviä oppimisvaikeuksia esiintyy puolella kouluikäisistä NF1-potilaista, ja aktiivisuuden ja tarkkaavaisuuden ongelmia havaitaan kolme kertaa yleisemmin kuin potilaiden terveillä sisaruksilla. Mahdollisten kehityksen ongelmien tai viipeiden vuoksi NF1-lapsipotilaiden tulisikin olla lastenneurologin seurannassa. Osteopeniaa, joka usein etenee osteoporoosiksi, esiintyy kolmasosalla aikuisista NF1-potilaista, ja yli 40-vuotiailla murtumariski onkin muuhun väestöön verrattuna viisinkertainen. (Peltonen ym. 2014.) Tyypin 1 neurofibromatoosiin voi liittyä myös sydän- ja verenkiertoelimistön löydöksiä, joita käsitellään tässä työssä myöhemmin.

Genotyyppi-fenotyyppi-korrelaatiot NF1:ssä

Kliinisen taudinkuvan suuren vaihtelun, useiden oireiden ikäriippuvaisen ilmenemisen ja mutaatioiden moninaisuuden vuoksi tyypin 1 neurofibromatoosissa on haastavaa löytää merkittäviä genotyypin ja fenotyypin välisiä yhteyksiä (Koczkowska ym. 2018). Erilaisia *NF1*-mutaatioita on kuvattu jo yli kolme tuhatta ja mutaatioita on löydetty tasaisesti koko geenin alueelta (Barrea ym. 2018). Ainoastaan harvoja genotyyppi-fenotyyppi –korrelaatioita on havaittu (Koczkowska ym. 2018). Mutaatioanalyysillä on siis toistaiseksi enemmänkin diagnostista kuin ennustetta tai tulevaa taudinkulkua

selvittävää arvoa. Joitakin kliinisesti merkittäviä genotyyppi-fenotyyppi-korrelaatioita on kuitenkin pystytty havaitsemaan.

Ensimmäiseksi tunnistettu genotyyppi-fenotyyppi-korrelaatio liittyy *NF1*-mikrodeleetioihin, eli suuriin deleetioihin, jotka kattavat koko *NF1*-geenin ja joukon sen ympärillä olevia geenejä. Mikrodeleetiot ovat yleisimpiä toistuvia *NF1*-geenin muutoksia, jotka ovat *NF1*-taudin syynä 4,7-11 %:lla potilaista. Mikrodeleetioita on neljää eri tyyppiä, joista tyyppi 1 on yleisin, kattaen noin 70-80 % suurista *NF1*-deleetioista. Tyypin 1 mikrodeleetio on laajuudeltaan 1.4Mb ja sen alueelle jää 14 proteiinia koodaavaa geeniä. *NF1*-geenin mikrodeleetioiden on havaittu olevan yhteydessä vaikeaan taudinkuvaan. *NF1*-mikrodeleetioon liittyvässä taudinkuvassa kasvaintaakka on keskimääräistä suurempi, ihon ja ihonalaisia neurofibroomia esiintyy usein huomattavan runsaasti, ja neurofibroomien kasvun on esitetty alkavan tavanomaista aikaisemmin. Mikrodeleetiopotilailla esiintyy myös pleksiformisia neurofibroomia useammin kuin muilla *NF1*-potilailla. Pleksiformisten neurofibroomien lisääntynyt esiintyvyys on yhteydessä myös *NF1*-mikrodeleetiopotilaiden suurentuneeseen riskiin sairastua pahanlaatuiseen perifeerisen hermotupen kasvaimen (MPNST). MPNST:n riski mikrodeleetiopotilailla on noin kaksinkertainen verrattuna *NF1*-potilaisiin keskimäärin. (De Raedt ym. 2003.) Lisäksi taudinkuvaan on liitetty epämuotoiset kasvonpiirteet, sydän- ja verenkiertoelimistön epämuodostumat ja muusta *NF1*-väestöstä poiketen ikäisekseen pitkä ruumiinrakenne. Vaikka mikrodeleetioiden on havaittu olevan yhteydessä vaikeampaan tautiin, myös mikrodeleetiopotilaiden taudinkuvissa voi esiintyä eroja. Deleetioalueelle osuvat muut geenit saattavat vaikuttaa lopulliseen ilmiasuun. (Kehrer-Sawatzki ym. 2017.)

Toinen tavanomaista vaikeampaan taudinkuvaan liitetty genotyyppi liittyy vaihtomutaatioihin (missense-mutaatioihin) *NF1*-geenin kodoneissa 844-848. Eräässä tutkimusaineistossa tällaisia mutaatioita esiintyi noin 0,8 %:lla tutkittavista, ja 75 %:lla tällaista patogeenistä varianttia kantavista potilaista oli vaikea taudinkuva. Näillä potilailla on havaittu olevan enemmän merkittäviä ulkoisesti näkyviä pleksiformisia neurofibroomia, oireita aiheuttavia selkäytimen lähellä sijaitsevia neurofibroomia, ja näköhermon kulkureitillä sijaitsevia gliomia kuin klassisessa taudinkuvassa. Myös pahanlaatuisten kasvaimien esiintyvyys on suurempaa, ja luustomutoksia, kuten skolioosia esiintyy useammin. (Koczkowska ym. 2018.)

Myös lievempään taudinkuvaan liittyviä genotyypppejä on kuvattu. Deleetio c.2970-2972delAAT, eli kolmen emäsparin häviämä, johtaa proteiinitasolla asemassa 992

olevan metioniinin puuttumiseen (p.Met992del) (Upadhyaya ym. 2007, Koczkowska ym. 2019). Sen esiintymisprosentiksi on eräässä aineistossa arvioitu noin 0,9 % (Koczkowska ym. 2019). Tähän patogeeniseen varianttiin liittyy lievä taudinkuva, jossa esiintyy lähinnä pigmenttimuutoksia, kuten maitokahviläiskiä, kesakoita ja Lischin noduluksia. Potilailla tautiin ei liity ulkoisesti havaittavia kasvaimia, kuten ihon tai ihonalaisia neurofibroomia tai pleksiformisia neurofibroomia. Myös näköhermon glioomia esiintyy vähemmän. Tähän taudinkuvaan liittyy kuitenkin oppimisen vaikeuksia ja kognition ongelmia sekä muita NF1-potilaita suurempi taipumus Noonanin oireyhtymän kaltaisiin kasvonpiirteisiin ja pulmonaalistenoosiin eli keuhkovaltimon ahtaumaan. Koska neurofibroomat ovat yksi neurofibromatoosi 1:n tunnusomaisimmista piirteistä, voi niiden puuttuminen vaikeuttaa tai viivästyttää NF1-diagnoosia. Kaikki p.Met992del-potilaat eivät välttämättä täytä NIH:n diagnostisia kriteerejä, ja diagnoosi voi lisäksi sekoittua esimerkiksi Legiuksen oireyhtymään. (Koczkowska ym. 2019.) Tässä erikoistapauksessa mutaatioanalyysillä on siis sekä diagnostista että ennusteellista merkitystä.

Toinen lievempään taudinkuvaan yhdistetty genotyyppi liittyy vaihtomutaatioihin (missense-mutaatioihin) asemassa p.Arg1809. Arginiiniin 1809 kohdistuvia patogeenisiä vaihtomutaatioita (missense-mutaatioita) on viisi, ja ne yhdessä kattavat eräässä aineistossa noin 1,23 % NF1-potilaista (Rojnueangnit ym 2015). Ilmiasu on monilta osin samankaltainen kuin patogeenistä p.Met992del-varianttia kantavilla potilailla, eli tautiin liittyy lähinnä pigmenttimuutoksia. Neurofibroomia, pleksiformisia neurofibroomia sekä näköhermon glioomia esiintyy klassista NF1-taudinkuvaa vähemmän. Oppimisvaikeuksia, Noonanin oireyhtymän piirteitä ja pulmonaalistenoosia tavataan usein. Lyhyttä ruumiinrakennetta esiintyy enemmän kuin klassisessa NF1-taudinkuvassa ja p.Met992del-potilailla. (Rojnueangnit ym. 2015.)

Potilailla, joilla on vaihtomutaatio (missense-mutaatio) asemassa p.Met1149, p.Arg1276 tai p.Lys1423 ilmenee Noonanin oireyhtymän kaltaisia piirteitä useammin kuin muilla NF1-potilailla. Vaihtomutaatio (missense-mutaatio) asemassa p.Met1149 on yhteydessä lievempään taudinkuvaan, joka muistuttaa p.Met992del- ja p.Arg1809-mutaatioita. Neurofibroomat ovat harvassa, kuten myös pleksiformiset neurofibroomat ja näköhermon gliomat. Mutaatio asemassa p.Arg1276 on puolestaan yhteydessä suurempaan selkäytimen lähellä kasvavien neurofibroomien esiintyvyyteen, mutta vähäisempään ihon neurofibroomien esiintyvyyteen. Aseman p.Lys1423

vaihtomutaatio (missense-mutaatio) voi altistaa suuremmalle ulkoisesti näkyvien pleksiformisten neurofibroomien taakalle. Sekä p.Arg1276- että p.Lys1423-vaihtomutaatioilla (missense-mutaatioilla) on yhteys suurempaan luustomuutosten ja sydän- ja verisuonielimistön epämuodostumien esiintyvyyteen verrattuna klassiseen NF1-taudinkuvaan. (Koczkowska ym. 2020.)

Neurofibromatoosi 1:een liittyy suurentunut rintasyöpäriski, mutta *NF1*-mutaation tyyppin on esitetty vaikuttavan sen suuruuteen. Mutaatiot, jotka johtavat siihen, että virheellistä proteiinia ei tuoteta, vaikuttavat nostavan rintasyöpäriskiä vain vähän tai ei lainkaan. Tällaisia mutaatioita ovat koko geenin deleetiot sekä vaiheistus- (frameshift) ja pysäytysmutaatiot (nonsense), jotka johtavat syntyneen lähetti-RNA:n hajotukseen (nonsense-mediated decay, NMD). Puolestaan sellaiset mutaatiot, jotka aiheuttavat epänormaalien proteiinien ilmentymisen, kuten vaihtomutaatiot tai sellaiset pysäytysmutaatiot, jotka eivät johda lähetti-RNA:n hajoamiseen, nostaisivat rintasyöpäriskiä. (Frayling ym. 2019.) Tätä voisi selittää sillä, että neurofibromiini toimii solussa dimeerinä (Sherekar ym. 2020). Toisen *NF1*-alleelin koodittaman proteiinituotannon puuttuminen kokonaan voi aiheutua suurista geenin deleetioista sekä NMD:tä aiheuttavista vaiheistus- ja pysäytysmutaatioista. Tällaisissa tapauksissa neurofibromiinin toiminta vähenee puoleen. Epänormaalien proteiinien ilmentyminen häiritsee neurofibromiinin normaalia toimintaa kuitenkin vielä enemmän. Epänormaali proteiini muodostaa toisen epänormaalien proteiinien kanssa homodimeerejä ja normaalien proteiinien kanssa heterodimeerejä, jolloin normaali toiminta laskee neljäsosaan. Tällainen tilanne aiheutuisi vaihto- tai pysäytysmutaatioista, jotka eivät aiheuta lähetti-RNA:n hajotusta. (Frayling ym. 2019.)

Neurofibromatoosi 1 ja sydän- ja verenkiertoelimistön löydökset

Neurofibromatoosi 1 voi vaikuttaa lähes kaikkiin elinjärjestelmiin (Jouhilahti ym. 2011). Osalla potilaista esiintyy tautiin liittyviä sydän- ja verenkiertoelimistön löydöksiä, joista yleisimpiin kuuluvat vaskulopatia eli verisuonitauti, kohonnut verenpaine ja synnynnäiset sydämen epämuodostumat. Sydän- ja verisuonisairaudet on tunnistettu yleiseksi ennen aikaisen kuoleman aiheuttajaksi NF1-potilailla, ja esimerkiksi kohonneen verenpaineen on huomattu liittyvän keskeisesti kuolleisuuteen. (Friedman ym. 2002.) Kuolleisuus sydän- ja verisuonitauteihin on NF1-potilailla suurempaa kuin väestössä, ja standardoitu kuolleisuussuhde (SMR, standardized mortality ratio) on noin 2 (Uusitalo ym. 2015). Sydän- ja verisuonisairaudet aiheuttavat NF1-potilailla myös enemmän sairaalahoidon tarvetta ja sairaalassa vietettyjä päiviä kuin muulla

väestöllä (Kenborg ym. 2020). NF1:een liittyvä sydän- ja verisuonisairastavuus onkin tästä syystä huomionarvoinen tutkimuskohde, jonka parempi ymmärtäminen on hedelmällistä potilaiden hoidon kannalta (Friedman ym. 2002). Synnyynnäiset ja harvinaisemmat sydän- ja verisuonisairaudet ja -löydökset ovat saaneet enemmän huomiota, mutta väestössä muutenkin yleisinä esiintyvien sydän- ja verisuonisairauksien mahdollisista kytköksistä NF1:een ei vielä tiedetä kovinkaan paljoa.

NF1:een liittyvä verisuonitauti

NF1:een liittyvä verisuonitauti eli vaskulopatia voi ilmetä monin tavoin ja vaikuttaa sekä suuriin että pieniin verisuoniin. Mahdollisia ilmenemistapoja ovat muun muassa ahtaumat ja tukkeumat sekä aneurysmat. Vaskulopatia vaikuttaa useimmiten systeemiverenkiertoon ja ilmenee useammassa potilaan suonessa. Oireiden ilmeneminen on kuitenkin harvinaista, ja monet potilaat eivät koskaan elämänsä aikana kehitä huomattavia oireita. Oireinen vaskulopatia havaitaan yleensä jo nuorella iällä, lapsuudessa tai nuorena aikuisena, usein raskauden yhteydessä. (Friedman ym. 2002.) Eräässä tutkimuksessa vaskulopatiaa todettiin 14/181 lapsipotilaalla, jolloin esiintyvyydeksi NF1:ssä saatiin noin 8 %. Havaituista potilaista suurimmalla osalla vaikutuksen kohteena olivat aivoverisuonet, loppuilla vaskulopatia oli perifeeristä. (Kaas ym. 2013.) NF1:een liittyvän vaskulopatian syntymekanismia ei tunneta tarkasti, mutta neurofibromiinia on jo vuonna 1995 osoitettu löytyvän rotan verisuonten endoteelisoluista ja aortan sileälihassoluista (Norton ym. 1995), ja myöhemmin on osoitettu, että *NF1*-geenin puute johtaa epänormaaliin jakautumisvasteeseen sileälihassoluissa suonivaurion jälkeen (Xu ym. 2007).

Oireita aiheuttavan vaskulopatian tavallisin ilmentymä on munuaisvaltimon ahtauma, joka ilmenee sekundaarisesti kohonneena verenpaineena. Munuaisvaltimon ahtaumaa tavataan 1-2 %:lla NF1-potilaista. (Friedman ym. 2002, Ferner ym. 2007.) Se on syytä pitää mielessä NF1:tä sairastavien lasten ja nuorten sekä erityisesti raskaana olevien kohdalla. Vanhemmalla iällä munuaisvaltimon ahtauma on harvinaisempi, mutta se on syytä tutkia ja poissulkea, jos kohonnut verenpaine on vaikea ja reagoi lääkitykseen huonosti. (Friedman ym. 2002.)

Vaskulopatia voi ilmetä myös aivoissa, joissa yleisin löydös on ahtaumasta tai tukkeumasta johtuva moyamoya-tyyppinen muutos. Ahtauman ympärille muodostuu pieniä, laajentuneita verisuonia, jotka angiografiassa näkyvät ikään kuin savupilvenä,

mistä löydös on saanut nimensä. (Friedman ym. 2002.) Moyamoya-muutoksia tavataan 2,3-6 %:lla NF1-lapsipotilaista (Santoro ym. 2017). Aivoverisuonten vaskulopatiolla ei näytä olevan yhteyttä NF1:n muihin oireisiin, vaan muulta taudinkuvaltaan tällaiset potilaat eivät oleellisesti eroa muista NF1-potilaista (Kaas ym. 2013, Santoro ym. 2017). Aivoverisuonten vaskulopatia voi usein olla oireeton ja tulla esiin sivulöydöksenä muusta syystä, kuten näköhermon gliooman vuoksi tehdyn kuvantamisen yhteydessä. Eräässä tutkimuksessa kahdestatoista NF1:een liittyvää aivoverisuonten vaskulopatiaa sairastavasta potilaasta kahdella ilmeni oireita. (Kaas ym. 2013.) Mahdollisia oireita voivat olla tyypillisen aivoverisuonitapahtuman tai ohimenevän iskeemisen kohtauksen (TIA, transient ischaemic attack) kaltaiset oireet (Kaas ym. 2013). Aivoverisuonten vaskulopatia diagnosoidaan usein lapsilla esimerkiksi päänsäryn, heikon olon, tahattomien liikkeiden, kohtausoireiden tai akuuttien neurologisten puutosoireiden johdosta (Friedman ym. 2002).

Synnynnäiset sydän- ja verenkiertoelimistön löydökset

Neurofibromiinilla on havaittu olevan merkittävä rooli sydämen kehityksessä. Tätä ajatusta tukee se, että hiiret, joilta molemmat *NF1*-alleelit on tehty inaktiivisiksi, kuolevat jo aikaisessa kehitysvaiheessa vaikeisiin sydämen kehityshäiriöihin. (Brannan ym. 1994, Friedman ym. 2002.) Tämä tieto antaa periaatteellisen pohjan NF1:een liittyville synnynnäisille sydämen epämuodostumille. NF1-potilaiden riskin synnynnäisiin verenkiertoelimistön epämuodostumiin onkin havaittu olevan muuta väestöä merkittävästi suurempi (Leppävirta ym. 2018). Sydän- ja verenkiertoelimistön synnynnäisiä epämuodostumia on aiemmin raportoitu esiintyvän 0,4-6,4 %:lla NF1-potilaista (Lin ym. 2000), mutta sittemmin luvun on havaittu vaihtelevan 2 %:sta 27 %:iin riippuen siitä, onko tieto kerätty käyttämällä potilasasiakirjoja vai esimerkiksi sydämen ultraäänitutkimusta (Pinna ym. 2019). Yleisin synnynnäinen löydös on pulmonaalistenoosi, joka useimmiten on läppäperäinen. Se muodostaa lähes puolet NF1-potilaiden synnynnäisistä sydänsairauksista (Lin ym. 2000). Pulmonaalistenoosi liittyy etenkin NF1-Watson- ja NF1-Noonan-oireyhtymiin ja suuriin *NF1*-deleetioihin, mutta sen esiintyvyys on koholla myös muilla NF1-potilailla (Friedman ym. 2002). Pulmonaalistenoosiin on havaittu sittemmin myös liittyvän genotyyppi-fenotyyppi-korrelaatioita: etenkin vaihtomutaatiot asemissa p.Arg1276, p.Lys1423 ja p.Arg1809, sekä p.Met992del-mutaatio kasvattavat pulmonaalistenoosin riskiä (Rojnueangnit ym. 2015, Koczkowska ym. 2019, Koczkowska ym. 2020). Myös muita läppävikoja, kuten mitraali- ja aorttaläpän ongelmia esiintyy NF1:ssä muuta väestöä enemmän. Sydämen väliseinän puutokset ovat myös mahdollisia, mutta suurin osa NF1:ssä tavattavista

löydöksistä liittyy läppiin (Pinna ym. 2019). Vaikeita sydämen epämuodostumia esiintyy NF1:ssä vain vähän (Friedman ym. 2002). Lisäksi on huomionarvoista, että NF1-äitien lapsilla, joilla ei ole NF1:tä, ei ole havaittu suurentunutta riskiä synnyntäisiin epämuodostumiin (Leppävirta ym. 2018).

Verenpaine

Tyyppin 1 neurofibromatoosiin liittyy suurentunut riski hypertensioon eli kohonneeseen verenpaineeseen. Kohonneen verenpaineen esiintyvyyden nuorilla NF1-potilailla on raportoitu olevan 2-18,5 %:n luokkaa, riippuen käytetyistä mittausmenetelmistä, tulosten tulkinnasta ja siitä, miten potilaat ovat valikoituneet tutkimukseen. Esimerkiksi vastaanottomittaukset eroavat arjessa tehdyistä ambulatorisista mittauksista. (Lama ym. 2004, Dubov ym. 2016.) Tanskalaisessa tutkimuksessa havaittiin, että kohonnut verenpaine aiheuttaa NF1-potilailla muuta väestöä enemmän sairaalahoidon tarvetta (Kenborg ym. 2020). NF1-potilaan verenpainetta onkin seurattava. Kohonnut verenpaine voi olla luonteeltaan primaarista, eli moninaisista ja osin tuntemattomista syistä johtuvaa, tai sekundaarisesta, jolloin kohonneelle verenpaineelle löytyy jokin selkeä yksittäinen selittävä tekijä. Primaarinen kohonnut verenpaine on aikuisväestössä huomattavasti yleisempää, kuten myös NF1-potilailla, mutta NF1:een liittyy myös selkeitä sekundaarisen hypertension aiheuttajia (Friedman ym. 2002). Suomalaisen NF1-kohortin avulla tehdyssä tutkimuksessa todettiin NF1-potilailla olevan 1,64-kertainen riski primaaristi kohonneeseen verenpaineeseen verrattuna verrokkikohorttiin. NF1-potilailla todettiin myös olevan 3,76-kertainen riski sekundaarisesti kohonneeseen verenpaineeseen verrokkikohorttiin nähden. Riskit eivät eronneet sukupuolten välillä. Primaarista verenpainetautiä sairastavat NF1-potilaat olivat nuorempia verrokkiväestöön nähden. (Loponen ym. 2023). Sekundaarisesti kohonnut verenpaine tulee kyseeseen etenkin lapsipotilailla, joiden kohonneelle verenpaineelle on usein löydettävissä jokin syy. Kohonneen verenpaineen esiintyvyys NF1-lapsipotilailla erään tutkimuksen kolmessa peräkkäisessä mittauksessa oli 3,5 %, joka on kymmenen kertaa korkeampi kuin on raportoitu muulla lapsiväestöllä (Dubov ym. 2016).

Eräs sekundaarisesti kohonneen verenpaineen aiheuttaja on jo edellä mainittu munuaisvaltimon ahtauma, joka on merkittävä kohonneen verenpaineen syy etenkin lapsipotilailla. NF1-potilaiden osuuden munuaisvaltimoperäistä kohonnutta verenpainetta sairastavista on raportoitu olevan 11-26 %:n luokkaa, mutta sekundaarisen kohonneen verenpaineen osuus NF1-potilaiden kohonneesta

verenpaineesta on epäselvä (Fossali ym. 2000). Munuaisvaltimon ahtauma vaikuttaa noin 1-2 %:iin NF1-potilaista, mutta kaikilla se ei välttämättä aiheuta oireita. Munuaisvaltimo voi olla anatomialtaan kaventunut myös ilman että se aiheuttaa kohonnutta verenpainetta (Friedman ym. 2002). Ahtauma voi esiintyä molemmilla puolilla tai vain toisella puolella (Ferner ym. 2007). Munuaisvaltimon ahtauma vähentää munuaisen omaa verenkiertoa, jolloin munuainen ikään kuin luulee verenpaineen olevan matala. Tämä johtaa lisääntyneeseen reniinin eritykseen ja siten reniini-angiotensiini-aldosteronijärjestelmän aktivoitumiseen, mikä nostaa verenpainetta supistamalla valtimoita (angiotensiini II) ja lisäämällä natriumin ja siten myös veden takaisinimeytymistä munuaisista (aldosteroni). Tilaa hillitään verenpainelääkkeillä ja lopullinen hoito on kirurginen niille potilaille, joille leikkaus on mahdollinen (Tullus ym. 2008).

Aortan koarktaatio on myös mahdollinen sekundaarisesti kohonneen verenpaineen syy NF1-potilailla. Koarktaatio eli kaventuma on vaskulopatiaan liittyvä löydös ja ilmenee NF1:ssä useimmiten vatsa-aortan alueella, mutta myös rintakehän alueen koarktaatioita on raportoitu (Mavani ym. 2014). Erään katsauksen mukaan vatsa-aortan koarktaatioita tai aneurysmia oli 12 % 320:stä läpikäydystä NF1:een liittyvästä verisuonilöydöksestä (Oderich ym. 2007).

Feokromosytooma on lisämunuaisen ytimen kasvain, jota esiintyy noin kahdella prosentilla NF1-potilaista (Friedman ym. 2002, Ferner ym. 2007). Luku saattaa todellisuudessa olla korkeampi, jopa noin 7-14 %, ja on esitetty, että NF1-potilaiden mahdollinen seulonta voisi olla aiheellista (Al-Sharefi ym. 2019). Feokromosytooma voi aiheuttaa sekundaarisesti kohonnutta verenpainetta erittämällä säätelemättömästi ja epätarkoituksenmukaisesti katekoliamineja, erityisesti adrenaliinia ja noradrenaliinia. Yleisesti noin 10 % feokromosytoomista esiintyy lisämunuaisytimen ulkopuolella, jolloin puhutaan paraganglioomasta (Zinamosca ym. 2011). Noin 12 % NF1:een liittyvistä feokromosytoomista on pahanlaatuisia (Ferner ym. 2007). Hyvänlaatuinenkin kasvain on kuitenkin haitallinen ja aikainen havaitseminen on tärkeää mahdollisesti henkeä uhkaavien komplikaatioiden välttämiseksi. Yleisiä oireita ovat kohonnut verenpaine, päänsärky, hikoilu ja rytmihäiriötuntemukset. Eräissä tutkimuksissa 56-57 % NF1-potilaiden feokromosytoomista aiheutti oireita (Zinamosca ym. 2011, Al-Sharefi ym. 2019). Lisäksi on havaittu, että feokromosytooma löytyy noin 20-50 %:lta NF1-potilaista, jotka kärsivät korkeasta verenpaineesta (Walther ym. 1999). Hoitona toimii kasvaimen kirurginen poisto.

Kohonnut verenpaine on yleistä NF1-potilailla, ja vaikka tunnettuja sekundaarisen hypertension aiheuttajia esiintyy muuta väestöä useammin, munuaisvaltimon ahtaumat, aortan koarktaatiot ja feokromosytoomat eivät yksin riitä selittämään kohonneen verenpaineen yleisyyttä NF1-väestöllä. Primaarinen eli monesta eri tekijästä ja osin tuntemattomista syistä kohonnut verenpaine on kuitenkin erittäin yleistä myös muulla väestöllä ja on toistaiseksi epäselvää, liittyykö tyyppin 1 neurofibromatoosiin kohonnut riski myös muulle kuin sekundaarisesti kohonneelle verenpaineelle. Primaarisesti kohonnut verenpaine voi olla NF1:n ominaisuus tai kenties vain muuten yleinen löydös, joka tulee esiin NF1-potilaiden seurannassa. (Friedman ym. 2002, Loponen ym. 2023.) Myös niillä NF1-potilailla, joilla ei ole munuaisvaltimon ahtaumaa tai feokromosytoomaa, esiintyy kohonnutta verenpainetta useammin kuin muulla väestöllä, mikä viittaa siihen, että kohonnut verenpaine olisi neurofibromatoosi 1:een suoraan liittyvä löydös, eikä vain näiden kahden harvinaisemman löydöksen komplikaatio (Dubov ym. 2016).

Verenpainetautia NF1:ssä on tarkasteltu monessa kuolinsyihin perustuvassa tutkimuksessa. Zöller ja kumppanit esittivät jo vuonna 1995 kohonneen verenpaineen liittyvän NF1-potilailla suurempaan kuolleisuuteen verrattuna NF1-potilaisiin, joiden verenpaine oli normaali (Zöller ym. 1995). Rasmussenin ja kumppanien yhdysvaltalaisiin kuolintodistuksiin perustuvassa tutkimuksessa havaittiin, että ennen kolmeakymmentä ikävuotta kuolleiden NF1-potilaiden kuolintodistuksessa mainittiin hypertensio muuta väestöä useammin, mutta ero tasoittui iän myötä, eikä ollut havaittavissa enää 39 ikävuoden jälkeen kuolleilla NF1-potilailla. Tässä tutkimuksessa havaittu verisuonisairauksien taakka oli kuitenkin pitkälti aivoverisuonisairauksien eikä niinkään kohonneen verenpaineen aikaansaamaa (Rasmussen ym. 2001). Masocco ja kumppanit puolestaan havaitsivat italialaisiin kuolintodistuksiin perustuvassa tutkimuksessaan muuta väestöä vähemmän mainintoja kohonneesta verenpaineesta (Masocco ym. 2011). Primaarisesti kohonneen verenpaineen osalta kuolinsyihin perustuvat tutkimukset voivat mahdollisesti altistua harhoille, sillä nuorella iällä kuolleet ihmiset eivät ehdi elämänsä aikana kehittää primaaria verenpainetautia, jonka esiintyvyys väestössä on korkeampaa vanhemmalla iällä. Lisäksi verenpainetauti voi jäädä mainitsematta NF1-potilaan kuolintodistuksessa, jos se ei oleellisesti vaikuta esimerkiksi syöpätaudin aiheuttamaan kuolemaan. Primaarisen verenpainetaudin hoito NF1-potilailla ei poikkea muusta väestöstä, eikä toistaiseksi ole nähty syytä asettaa tälle potilasjoukolla omaa tavoiteverenpainetasoa. NF1-potiaan

verenpaine tavoite on siis alle 140/90 mmHg, tai alle 130/85, jos potilaalla on kohde-elinvaurioita tai diabetes (Ferner ym. 2007).

Infarktit ja ateroskleroosi

Muussa väestössä hyvin merkittäviä sydän- ja verisuonitautitaakan aiheuttajia ovat iskeemiset sydänsairaudet, sydäninfarktit ja niille altistava ateroskleroosi, mutta niiden merkitystä tai mahdollisesti poikkeavaa esiintyvyyttä NF1-potilailla ei vielä tunneta kunnolla. Tapauksertomuksissa on kuvattu sydäninfarkteja NF1:n komplikaatioiden seurauksina jopa ilman tunnettuja sydän- ja verisuonitautien riskitekijöitä, esimerkiksi sepelvaltimon aneurysmaan muodostuvien veritulppien (Molina-Martin de Nicolas ym. 2015) tai feokromosytooman liiallisen katekoliamiinierityksen johdosta (Babinska ym. 2008). Evans ja kumppanit totesivat kuolinsyihin perustuvassa tutkimuksessaan yhdeksän sydäninfarktin aiheuttamaa kuolemaa 131:n NF1-kuoleman aineistossa (Evans ym. 2011). Rasmussen kumppaneineen havaitsi omassa yhdysvaltalaisesta aineistosta käyttävässä tutkimuksessaan hieman muuta väestöä vähemmän aikuisiän sydänsairauksiin liittyviä NF1-kuolemia, mutta tässä tutkimuksessa aikuisiän sydänsairauksiin oli luettu iskeemisten sydänsairauksien lisäksi myös paljon muita sydänsairauksia (Rasmussen ym. 2001). Iskeeminen sydänsairaus oli mainittu kuolintodistuksessa muuta väestöä harvemmin myös Masoccon ja työtovereiden tutkimuksessa italialaisella väestöllä (Masocco ym. 2011).

Iskeeminen sydänsairaus on vahvasti liitoksissa ateroskleroosiin. Valtimoiden ja pikkualtimoiden sairaudet, joihin ateroskleroosi lukeutuu, mainittiin myös muuta väestöä harvemmin NF1-potilaiden kuolintodistuksissa Masoccon ja kumppaneiden tutkimuksessa (Masocco ym. 2011). Kenborg työtovereineen havaitsi, että valtimoiden, pikkualtimoiden ja kapillaarien sairaudet aiheuttavat Tanskassa NF1-potilailla enemmän sairaalajaksoja kuin vastaavassa väestössä, mutta riski sairaalajaksolle iskeemisen sydänsairauden johdosta ei eronnut merkitsevästi NF1-potilaiden ja muun väestön välillä: suhteellinen riski oli 0.9 (0.8-1.2) (Kenborg ym. 2020). Mekanistista taustaa ateroskleroosille luovat hiirikokeet, joissa neurofibromiinin puutteen on havaittu muuttavan verisuonen reagoitua vaurioon (Xu ym. 2007). Rodriguesin ja työtovereiden (2013) mukaan NF1-vaskulopatia voisi myös olla yhteydessä endoteelin epänormaaliin toimintaan, jonka on todettu olevan varhainen vaihe ateroskleroosin kehittymisessä. Endoteelin epänormaalien toiminnan esiintyvyys on kuitenkin samanlaista NF1-potilailla ja verrokeilla (Rodrigues ym. 2013).

Tutkimuksesta poissuljettiin henkilöt, joilla oli tunnettuja sydän- ja verisuonisairauksien riskitekijöitä tai muita endoteelin toimintaan tunnetusti vaikuttavia sairauksia.

Aineisto ja menetelmät

Tämän tutkielman tavoitteena oli suomalaisen neurofibromatoosikohortin tietojen täydentäminen varmistamalla NF1-diagnooseja ja lisäämällä mutaatioanalyysien tietoja rekisteriin. Näiden tietojen avulla oli tavoitteena lopulta tarkastella eri mutaatioiden yhteyttä sydän- ja verisuonisairauksien riskiin. Tutkimuksella oli VSSHP:n eettisen toimikunnan puoltava lausunto ja THL:n sekä sairaaloiden tutkimusluvut. Tutkielman potilasaineisto saatiin hyödyntämällä suomalaista neurofibromatoosikohorttia sekä THL:n hoitoilmoitusjärjestelmää (HILMO). Neurofibromatoosikohorttiin on alkujaan kerätty tieto kaikista potilaista, jotka ovat käyneet manner-Suomen keskus- tai yliopistosairaaloissa neurofibromatoosidiagnoosilla vuosina 1987-2011. Kohortti on luotu ja sitä ylläpidetään Turun yliopistossa. Ennen täydentämistä kohortissa oli yhteensä 1476 potilasta (Uusitalo ym. 2016, Kallionpää ym. 2018). Tämä tutkielma on osa neurofibromatoosikohortin täydentämistä vuoden 2011 jälkeen neurofibromatoosidiagnoosilla keskus- tai yliopistosairaaloissa käyneiden osalta. Näiden potilaiden diagnoosi varmistettiin käymällä läpi potilasasiakirjoja NF1:n diagnostisten kriteereiden mukaisesti (Legius ym. 2021). Lisäksi otettiin huomioon mutaatioanalyysitutkimuksella mahdollisesti todettu *NF1*-mutaatio. Kaikkiaan 96:n potilaan potilaskertomus käytiin läpi osana tätä tutkielmaa ja lisättiin rekisteriin.

Lisäksi rekisteriin koottiin kattavasti tiedot mutaatioanalyyseista niiden potilaiden osalta, joille sellainen oli tehty. Mutaatioanalyysiasiakirjat olivat Helsingin ja Uudenmaan sairaanhoitopiirin (HUS), Oulun yliopistollisen sairaalan (OYS) ja Turun yliopistollisen keskussairaalan (TYKS) alueelta. *NF1*-mutaatioista rekisteriin kirjattiin mutaation sijainti DNA:ssa ja syntyvässä proteiinissa sekä mutaation tyyppi. Erilaiset mutaatiot jaoteltiin intronialueen mutaatioihin, vaihtomutaatioihin, pieniin, muutaman emäksen deleetioihin, suuriin tai koko geenin kattaviin mikrodeleetioihin, duplikaatioihin ja insertioihin. Tieto mutaation tyypistä saatiin mutaatioanalyysiasiakirjoista. Lisäksi kirjattiin referenssisekvenssin numero ja mutaation ennustettu vaikutus syntyvään proteiiniin, mikäli se oli tiedossa.

Neurofibromatoosikohortista haettiin ne potilaat, joilla oli varmistettu NF1 ja joiden patogeeninen *NF1*-variantti oli tiedossa. Tällaisia potilaita löytyi 417. Näiden potilaiden

tiedot ajettiin ristiin hoitoilmoitusjärjestelmän tietojen kanssa R-ohjelman avulla. THL:n ylläpitämästä hoitoilmoitusjärjestelmästä saatiin kansainvälisen tautiluokituksen 10. version (ICD-10) mukaisesti kirjattua potilaskohtaista tietoa osastohoitojaksoista vuosilta 1996-2014 ja erikoissairaanhoidon avohoidosta vuosilta 1998-2014. HILMO sisältää tietoa muun muassa potilaiden diagnooseista, hoitotoimenpiteistä ja hoidon järjestämisestä. 417 potilaasta 217 potilaalla oli käytettävissä HILMO-tietoja. HILMO:sta haettiin näiden potilaiden ICD-10 diagnoosikoodit I10-I79 ja Q20-Q28. Lisäksi tarkasteltiin erikseen diagnoosikoodeja I10-I15, I20-I25, I60-I69, I70-I79 ja Q20-Q28. I10-I15 vastaavat verenpainesairauksia, I20-I25 iskeemisiä sydänsairauksia, I60-I69 aivoverisuonten sairauksia, I70-I79 valtimoiden, pikkualtimoiden ja hiussuonten sairauksia ja Q20-Q28 synnynnäisiä verenkiertoelimistön epämuodostumia.

I10-I79 diagnoosien esiintymistä verrattiin NF1-geenin eri mutaatiotyypin välillä. Lisäksi I10-I79 diagnoosien esiintymistä verrattiin mikrodeteleetioiden ja muiden mutaatiotyypin välillä. Lisäksi aineistossa esiintyvät mutaatiot jaettiin sijaintinsa perusteella karkeasti sen mukaan, sijaitseeko mutaatio geenin alku- vai loppupäässä. Tämän jälkeen verrattiin, eroavatko I10-I79 diagnoosien esiintyvyydet alku- ja loppupään mutaatioiden välillä. Tätä varten mikrodeteleetit suljettiin pois analyysistä, sillä niiden sijaintia ei olisi mielekäästi tarkastella tässä yhteydessä. Tunnettuja genotyyppi-fenotyyppi –korrelaatioihin liittyviä mutaatioita ja niihin mahdollisesti liittyviä I10-I79 sekä Q20-Q28 diagnooseja tarkasteltiin myös. Tilastolliset analyysit tehtiin käyttämällä JMP Pro 15 -ohjelmaa (JMP statistical discovery LLC, Cary, Yhdysvallat).

Tulokset

Mutaatiotietojen kerääminen ja neurofibromatoosirekisterin täydentäminen

Neurofibromatoosikohortin hakukriteerien mukaisista henkilöistä HUS-, OYS- ja TYKS-alueilla yhteensä 544:lle potilaalle oli tehty mutaatioanalyysitutkimus. Näihin tutkimuksiin sisältyi muun muassa *NF1*-, *NF2*-, *SPRED1*-, *LZTR1*- ja *SMARCB1*-geenin mutaatioanalyysijä. *NF1*-geenin mutaatioanalyysi oli tehty 484:lle potilaalle, joista 331:lle pystyttiin löytämään *NF1*-mutaatio. Mutaatioista 317 oli varmasti patogeenisia variantteja ja 14 oli patogeenisyydeltään epäselviä. 172:lla ei aiemmin ollut neurofibromatoosirekisteriin kirjattua mutaatiota. Näistä 331:stä löydetyistä *NF1*-mutaatiosta 56 oli potilailla, joilla ei aiemmin ollut rekisterissä *NF1*-diagnoosia (eivät aiemmin olleet rekisterin piirissä, tai olivat rekisterissä perheenjäsenenä, terveisinä tai seurannan alaisina). Potilaita, joilla oli sekä HILMO- ja mutaatiotietoja saatavilla oli

yhteensä 217. Tässä joukossa esiintyi 48 deleetiota (22 %), 19 duplikaatiota (8,6 %), 4 insertiota (1,8 %), 39 intronialueen mutaatiota (18 %), 14 mikrodeleetiota (6,5 %) ja 93 vaihtomutaatiota (43 %). Tehdyissä mutaatioanalyysitutkimuksissa löytyi 15 *NF2*-mutaatiota. Schwannomatooseihin liittyen mutaatioanalyseissä löytyi myös seitsemän *LZTR1*- ja kaksi *SMARCB1*-mutaatiota. Mutaatioanalyseissä löytyi myös kuusi *SPRED1*-mutaatiota, joista viisi oli potilailla, joilla ei vielä ollut rekisterissä Legiuksen oireyhtymän diagnoosia.

96 potilaskertomusta käytiin läpi osana tätä tutkielmaa. Kertomukset olivat HUS- ja KYS-alueilta. Läpikäydyistä potilaskertomuksista voitiin todeta 26 *NF1*-diagnoosia ja kolme mosaiikki-*NF1*-diagnoosia. 21:n *NF1*-diagnoosin kohdalla diagnoosi asetettiin uutena rekisteriin, kuten myös yhden mosaiikki-*NF1*-diagnoosin kohdalla. Asiakirjoista voitiin todeta kolme Legiuksen oireyhtymän diagnoosia, joista kaksi oli potilailla, joilla ei aiemmin ollut diagnoosia rekisterissä. 55:n potilaan kohdalla diagnoosi jäi saatavilla olevien potilaskertomusten perusteella avoimeksi. Yhdeksän henkilöä oli saatavilla olevien asiakirjojen perusteella tarkasteltujen oireyhtymien suhteen terveitä.

NF1-mutaation yhteys sydän- ja verenkiertoelimistön sairauksiin

217:stä *NF1*-potilaasta, joista HILMO- ja mutaatiotietoja oli saatavissa, 12 potilaalla (5,5 %) oli jokin diagnoosikoodeista I10-I79. Verenpaineeseen liittyviä diagnoosikoodeja I10-I15 löytyi 2 (0,92 %), iskeemisiin sydänsairauksiin liittyviä diagnoosikoodeja I20-I25 oli 2 (0,92 %), ja aivoverisuonten sairauksiin liittyviä diagnoosikoodeja I60-I69 oli 3 (1,4 %). Valtimoiden, pikkualtimoiden ja hiussuonten sairauksiin liittyviä diagnoosikoodeja I70-I79 löytyi 2 (0,92 %). Synnynnäisiin verenkiertoelimistön epämuodostumiin liittyviä diagnoosikoodeja Q20-Q28 löytyi puolestaan 8 (3,7 %).

Potilaista, joilla oli *NF1*-geenissä pieni muutaman emäksen deleetio, yhdellä oli I10-I79 diagnoosi. Duplikaatiopotilaista yhdellä, insertiopotilaista ei yhdelläkään, intronialueen mutaatiopotilaista kahdella, mikrodeleetiopotilaista yhdellä ja missense-mutaatiopotilaista puolestaan seitsemällä oli jokin I10-I79 diagnoosikoodeista (Taulukko 1). Mutaatiotyyppi ei vaikuttanut merkittävästi siihen, oliko potilaalla jokin diagnoosikoodeista I10-I79 (p -arvo 0,77; Fisherin tarkka testi). Mutaatiotyypillä myöskään ollut vaikutusta verenpainediagnoosin (I10-I15, $p=0,39$), iskeemisen sydänsairauden (I20-I25 $p=1,00$), aivoverisuonisairauden (I60-I69, $p=0,67$), verisuonten sairauden (I70-I79, $p=0,17$) tai synnynnäisten epämuodostumien (Q20-

Q28, $p=0,35$) esiintymiseen (Fisherin tarkka testi). Tarkastellut diagnoosikoodiryhmät mutaatiotyypeittäin on esitelty taulukossa 2.

Taulukko 1. I10-I79 diagnoosien jakautuminen eri mutaatiotyypin kesken.

	deleetio	duplikaatio	insertio	introni	mikrodeleetio	missense
Ei I10-I79-diagnoosia	47 (97,9 %)	18 (94,7 %)	4 (100,0 %)	37 (94,9 %)	13 (92,9 %)	86 (92,5 %)
I10-I79-diagnosi	1 (2,1 %)	1 (5,3 %)	0 (0,0 %)	2 (5,1 %)	1 (7,1 %)	7 (7,5 %)

Taulukko 2. Eri diagnoosikoodiryhmät mutaatiotyypeittäin.

	deleetio	duplikaatio	insertio	introni	mikrodeleetio	missense
Verenpainesairaudet						
Ei I10-I20-diagnoosia	48 (100,0 %)	18 (94,7 %)	4 (100,0 %)	39 (100,0 %)	14 (100,0 %)	92 (98,9 %)
I10-I20-diagnosi	0 (0,0 %)	1 (5,3 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	1 (1,1 %)
Iskeemiset sydänsairaudet						
Ei I20-I25-diagnoosia	47 (97,9 %)	19 (100,0 %)	4 (100,0 %)	39 (100,0 %)	14 (100,0 %)	92 (98,9 %)
I20-I25-diagnosi	1 (2,1 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	1 (1,1 %)
Aivoverisuonten sairaudet						
Ei I60-I69-diagnoosia	48 (100,0 %)	19 (100,0 %)	4 (100,0 %)	39 (100,0 %)	14 (100,0 %)	90 (96,8 %)
I60-I69-diagnosi	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	3 (3,2 %)
Valtimoiden, pikkualtimoiden ja hiussuonien sairaudet						
Ei I70-I79-diagnoosia	48 (100,0 %)	19 (100,0 %)	4 (100,0 %)	37 (94,9 %)	14 (100,0 %)	93 (100,0 %)
I70-I79-diagnosi	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	2 (5,1 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)

Mutaation sijainti *NF1*-geenin alku- tai loppupäässä ei vaikuttanut merkittävästi siihen, löytyykö potilaalta jokin I10-I79 diagnoosi (p -arvo 0,54; Fisherin tarkka testi). Mikrodeleetiot suljettiin pois analyysistä. Potilaista, joilla oli mutaatio *NF1*-geenin alkupäässä, kahdella oli I20-I25-diagnosi, kolmella I60-I69-diagnosi ja yhdellä I70-I79-diagnosi. Potilaista, joilla oli mutaatio *NF1*-geenin loppupäässä, kahdella oli I20-I25-diagnosi ja yhdellä I70-I79-diagnosi (Taulukko 3). Tilastollisesti merkittävää eroa ei tullut esille myöskään tarkasteltaessa tarkempia diagnoosikoodiryhmiä: p -arvo verenpaine-taudeille 0,24, iskeemisille sydänsairauksille 0,50, aivoverisuonten sairauksille 0,25, verisuonten sairauksille 1,00 ja synnynnäisille verenkiertoelimistön epämuodostumille 0,21. (Fisherin tarkka testi). Myös näissä testeissä mikrodeleetiot jätettiin analyysien ulkopuolelle.

Taulukko 3. Mutaation sijainti *NF1*-geenin alku- tai loppupäässä ja eri diagnoosikoodiryhmät. *NF1*-geenin mikroleetiöt suljettiin analyysistä pois.

	Sijainti <i>NF1</i> -geenin alkupäässä	Sijainti <i>NF1</i> -geenin loppupäässä
Verenpainesairaudet		
Ei I10-I20-diagnoosia	103 (100,0 %)	97 (98,0 %)
I10-I20-diagnoosi	0 (0,0 %)	2 (2,0 %)
Iskeemiset sydänsairaudet		
Ei I20-I25-diagnoosia	101 (98,1 %)	99 (100,0 %)
I20-I25-diagnoosi	2 (1,9 %)	0 (0,0 %)
Aivoverisuonten sairaudet		
Ei I60-I69-diagnoosia	100 (97,1 %)	99 (100,0 %)
I60-I69-diagnoosi	3 (2,9 %)	0 (0,0 %)
Valtimoiden, pikkuvaltimoiden ja hiussuonien sairaudet		
Ei I70-I79-diagnoosia	102 (99,0 %)	98 (99,0 %)
I70-I79-diagnoosi	1 (1,0 %)	1 (1,0 %)

Mikroleetiopotilaita oli aineistossa 14. Heistä yhdellä (7,1 %) oli jokin I10-I79 diagnoosi. Diagnoosi oli kuitenkin tässä tutkielmassa tarkemmin käsiteltyjen diagnoosikoodiryhmien ulkopuolella. Muissa mutaatiotyypeissä I10-I79 diagnooseja oli 11 (5,4 %). Tarkemmin käsiteltyjen diagnoosikoodiryhmien diagnooseja oli 9 (Taulukko 4). Ero I10-I79 diagnoosien esiintymisessä mikroleetiopotilaiden ja muiden patogeenisten varianttien kantajien välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevä (p-arvo 0,56; Fisherin tarkka testi).

Taulukko 4. Mikroleetiöt verrattuna muihin mutaatiotyyppeihin ja eri diagnoosikoodiryhmät

	Ei mikroleetiota	Mikroleetio
Verenpainesairaudet		
Ei I10-I20-diagnoosia	201 (99,0 %)	14 (100,0 %)
I10-I20-diagnoosi	2 (1,0 %)	0 (0,0 %)
Iskeemiset sydänsairaudet		
Ei I20-I25-diagnoosia	201 (99,0 %)	14 (100,0 %)
I20-I25-diagnoosi	2 (1,0 %)	0 (0,0 %)
Aivoverisuonten sairaudet		
Ei I60-I69-diagnoosia	200 (98,5 %)	14 (100,0 %)
I60-I69-diagnoosi	3 (1,5 %)	0 (0,0 %)
Valtimoiden, pikkuvaltimoiden ja hiussuonien sairaudet		
Ei I70-I79-diagnoosia	201 (99,0 %)	14 (100,0 %)
I70-I79-diagnoosi	2 (1,0 %)	0 (0,0 %)

Tarkasteltaessa kirjallisuudessa esiteltyjä genotyyppi-fenotyyppi –korrelaatioihin liittyviä mutaatioita todettiin aineistosta löytyvän joitakin potilaita, joilla on kyseisiä patogeenisia *NF1*-variantteja. Aineistossa oli 1 potilas, jolla oli todettu Met992del-mutaatio; yksi potilas, jolla oli todettu vaihtomutaatio kodonissa 844 ja yksi potilas, jolla oli todettu vaihtomutaatio asemassa p.Lys1423. Kenelläkään näistä potilaista ei kuitenkaan ollut mitään tarkasteltavista diagnooseista I10-I79 tai Q20-Q28. Muita tässä tutkielmassa käsiteltyjä tietynlaiseen fenotyyppiin yhdistettyjä patogeenisia variantteja ei esiintynyt aineistossa.

Pohdinta

Tyyppin 1 neurofibromatoosiin liittyy monia sydän- ja verenkiertoelimistön löydöksiä, mutta kaikkien verenkiertoelimistön sairauksien yhteyttä *NF1*:een ei tunneta täysin (Friedman ym. 2002). Esimerkiksi primaaristi kohonneen verenpaineen tai iskeemisten sydänsairauksien yhteys tyyppin 1 neurofibromatoosiin on epäselvä (Friedman ym. 2002, Masocco ym. 2011, Kenborg ym. 2020, Loponen ym. 2023). Lisäksi ymmärrys *NF1*-mutaation tyyppin mahdollisesta vaikutuksesta ilmenevään taudinkuvaan on puutteellista. Vaikka joitakin genotyyppi-fenotyyppi-korrelaatioita on pystytty havaitsemaan *NF1*:ssä, ei taudinkuvaa juuri voi ennustaa mutaation perusteella (Koczkowska ym. 2018).

Käymällä läpi potilasasiakirjoja *NF1*-diagnoosi varmistui 26:n potilaan kohdalla. Tämä vastaa 27 % tarkastelluista potilaista. Vastaavasti kolme sai mosaiikki-*NF1*-diagnoosin, eli 3,1 % tarkastelluista potilaista. Osuus on matalampi kuin aiemmin muodostetussa kohortissa, jossa käytiin läpi 2335 potilasta, joista 1471 (63 %) sai lopulta varmistetun *NF1*-diagnoosin (Uusitalo ym. 2015). Läpikäydyistä potilasasiakirjoista diagnoosi muodostui useimmiten maitokahviläiskien ja neurofibroomien perusteella. Toisinaan diagnoosi ei täyty, sillä potilaalla on vain maitokahviläiskiä, mutta ei muita löydöksiä. Tällaisissa tilanteissa mutaatioanalyysistä voi olla apua diagnoosin tekemisessä. Tässä tutkielmassa käytiin läpi 484 *NF1*-mutaatioanalyysiä, joista löytyi 331 (68 %) *NF1*-mutaatiota. Mutaatioista 317 oli lausuttu patogeenisiksi varianteiksi. Kirjallisuuden mukaan noin 90 %:lta potilaista joilla on tyypillinen *NF1*-taudinkuva, on löydettävissä patogeeninen *NF1*-variantti. RNA:han perustuvaa sekvensointia käyttämällä luku nousee 95-97%:iin (Legius ym. 2021). Mutaatioanalyysien tulokset ovat hyvä lisä neurofibromatoosikohortin tietoihin. Kohortin vahvuutena on se, että diagnoosit on varmistettu potilasasiakirjoja läpikäymällä. Tällöin diagnoosi perustuu varmasti diagnostisten kriteereiden

täyttymiseen. Tämä kartoittaa myös tietoa NF1:een liittyvistä löydöksistä. Toisaalta uusien diagnoosikriteerien myötä neurofibromatoosikohortti sisältää myös sellaisia potilaita, joilla ensimmäisen asteen sukulaisen perusteella täyttynyt kriteeri ei enää täyttyisi.

Tässä tutkielmassa pyrittiin tarkastelemaan eri mutaatiotyyppejä ja niiden mahdollisia yhteyksiä eri sydän- ja verenkiertoelimistön diagnooseihin. Tuloksena oli, että tässä tutkielmassa ei pystytty havaitsemaan eroja verenpainetaudin, iskeemisten sydänsairauksien, aivoverisuonten sairauksien, valtimoiden, pikkuvaltimoiden ja hiussuonten sairauksien tai synnynnäisten sydän- ja verenkiertoelinten epämuodostumien diagnoosien määrässä eri mutaatiotyyppien välillä. I10-I79-diagnoosien esiintyminen ylipäättään ei myöskään eronnut mutaatiotyyppien välillä. Myöskään mutaation sijainnilla ei havaittu olevan vaikutusta diagnoosikoodien I10-I79 esiintymiseen. Mikrodeleetiopotilaiden I10-I79-diagnoosien esiintyvyys ei eronnut muista patogeenisistä varianteista. Tämän tutkielman aineistossa olevilla tunnettuun genotyyppi-fenotyyppi-korrelaatioon liittyvää *NF1*-varianttia kantavilla potilailla ei myöskään esiintynyt I10-I79 tai Q20-Q28 diagnooseja. Aiemman kirjallisuuden mukaan tiettyihin *NF1*-fenotyyppeihin on yhdistetty suurempi pulmonaalistenoosin riski. Tällaisia ovat olleet *NF1*-Noonan- ja *NF1*-Watson-fenotyypit sekä suuret *NF1*-deleetiot (Friedman ym. 2002). Vaihtomutaatiot asemassa p. Arg1276, p.Lys1423 ja p.Arg1809 sekä deleetio asemassa p.Met992 on liitetty suurempaan pulmonaalistenoosin riskiin (Rojnueangnit ym. 2015, Koczkowska ym. 2019, Koczkowska ym. 2020). Keuhkovaltimoläpän synnynnäiset muutokset kuuluvat tarkasteltuun diagnoosijoukkoon Q20-Q28, mutta niitä ei esiintynyt sellaisilla potilailla, joilla on deleetio asemassa p.Met992 tai vaihtomutaatio asemassa p.Lys1423.

NF1-mutaatioanalyysi tehdään usein jo nuorella iällä, esimerkiksi vanhemman diagnoosin tai muun epäilyn pohjalta. Lisäksi mutaatioanalyysin teko on ollut arkipäiväistä diagnostiikkaa vasta verrattain lyhyen aikaa. Tämän vuoksi varmennetut patogeenista *NF1*-varianttia kantavat potilaat ovat usein nuoria, kuten myös tämänkin tutkielman potilasaineisto. Sydän- ja verisuonisairaudet yleistyvät ikääntyessä. Mahdollisesti myöhemmin elämässä kehittyvät verenkiertoelimistön sairaudet eivät ole vielä ehtineet tulla ilmi, eivätkä siis näy tässä tutkielmassa. Tämä selittää osaltaan vähäistä sydän- ja verisuonitautien diagnoosien määrää. Vain 12 mutaatioanalyysillä varmennetulla *NF1*-potilaalla oli HILMO:ssa jokin diagnoosikoodista I10-I79. Neurofibromatoosikohortin avulla tapahtuva seuranta voi tuoda asiasta arvokasta

uutta tietoa tulevaisuudessa. Suurempi, erityisesti iäkkäämpiä potilaita käsittävä aineisto tai pidempi seuranta-aika antaisi paremmat edellytykset verenkiertoelimistön sairauksien ja mutaatiotyypin mahdollisen vaikutuksen tutkimiseen tyypin 1 neurofibromatoosissa.

Tässä tutkielmassa ei ollut mahdollista ottaa huomioon *NF1*-mutaation vaikutusta syntyvään proteiiniin, sillä kyseistä tietoa ei usein ollut saatavilla läpikäydyistä asiakirjoista. Lisäksi analyysiohjelmaa, joka olisi riittävällä tarkkuudella ennustanut proteiinitason vaikutuksia, ei ollut käytettävissä tämän tutkielman tekoon. Toinen puute tässä tutkielmassa on se, että eri referenssisekvenssien mukaisia mutaatioita on käsitelty yhdessä. Eri referenssisekvenssien välisiä eroja emästen numeroinnissa ei verrattu, mistä saattaa aiheutua pientä vaihtelua mutaatioiden sijainnin suhteen. Tarkempi analyysi ja aineiston yhtenäistäminen voisi tuoda parempia ja luotettavampia tuloksia. Lisäksi mikäli I10-I79 diagnooseja olisi ollut aineistossa enemmän, olisi mahdollista jaotella geenin eri osien mutaatioita tarkemmin. Tuolloin esimerkiksi GAP-domeenin ja sen mutaatioiden tarkastelu erikseen olisi mahdollista.

Aineistoa on mahdollista laajentaa potilaiden perheenjäseniin olettamalla, että saman perheen *NF1*-potilailla on sama patogeeninen *NF1*-variantti. Näin on mahdollista luoda laajempi aineisto, mutta myös päästä tutkimaan iäkkäämpää potilasväestöä, kun nuorten potilaiden vanhempia ja isovanhempia saadaan mukaan analyyseihin. Aineiston laajentaminen mahdollistaisi tiettyjen mutaatioiden ja laajemmin mutaatiotyyppien, sekä niiden mahdollisten fenotyyppiyhteyksien havaitsemisen ja paremman tutkimisen. Tässä tutkimuksessa käytetyllä aineistolla ei ollut riittävää tilastollista voimaa havaita tai poissulkea genotyypin mahdollista yhteyttä sydän- ja verenkiertoelimistön sairauksiin.

Lähteet

Al-Sharefi, A., Javid, U., Perros, P., Ealing, J., Truran, P., Nag, S., Kamaruddin, S., Abouglila, K., Cains, F., Lewis, L. and James, R. A. (2019) 'Clinical Presentation and Outcomes of Pheochromocytomas/Paragangliomas in Neurofibromatosis Type 1', *Eur Endocrinol*, 15(2), pp. 95-100.

Babińska, A., Gnacińska, A., Swiatkowska-Stodulska, R. and Sworzczak, K. (2008) 'Myocardial infarction in a 30-year-old patient with pheochromocytoma and type 1 neurofibromatosis', *Pol Arch Med Wewn*, 118(9), pp. 517-23.

- Barrea, C., Vaessen, S., Bulk, S., Harvengt, J. and Misson, J.-P. (2018) 'Phenotype–Genotype Correlation in Children with Neurofibromatosis Type 1', *Neuropediatrics*, 49(3), pp. 180-184.
- Basu, T. N., Gutmann, D. H., Fletcher, J. A., Glover, T. W., Collins, F. S. and Downward, J. (1992) 'Aberrant regulation of ras proteins in malignant tumour cells from type 1 neurofibromatosis patients', *Nature (London)*, 356(6371), pp. 713-715.
- Brannan, C. I., Perkins, A. S., Vogel, K. S., Ratner, N., Nordlund, M. L., Reid, S. W., Buchberg, A. M., Jenkins, N. A., Parada, L. F. and Copeland, N. G. (1994) 'Targeted disruption of the neurofibromatosis type-1 gene leads to developmental abnormalities in heart and various neural crest-derived tissues', *Genes & development*, 8(9), pp. 1019-1029.
- Campen, C. J. and Gutmann, D. H. (2018) 'Optic Pathway Gliomas in Neurofibromatosis Type 1', *Journal of child neurology*, 33(1), pp. 73-81.
- Dasgupta, B., Yi, Y., Chen, D. Y., Weber, J. D. and Gutmann, D. H. (2005) 'Proteomic analysis reveals hyperactivation of the mammalian target of rapamycin pathway in neurofibromatosis 1-associated human and mouse brain tumors', *Cancer research (Chicago, Ill.)*, 65(7), pp. 2755-2760.
- De Raedt, T., Brems, H., Wolkenstein, P., Vidaud, D., Pilotti, S., Perrone, F., Mautner, V., Frahm, S., Sciot, R. and Legius, E. (2003) 'Elevated Risk for MPNST in NF1 Microdeletion Patients', *American journal of human genetics*, 72(5), pp. 1288-1292.
- DeBella, K., Szudek, J. and Friedman, J. M. (2000) 'Use of the National Institutes of Health Criteria for Diagnosis of Neurofibromatosis 1 in Children', *Pediatrics (Evanston)*, 105(3), pp. 608-614.
- Dubov, T., Toledano-Alhadeff, H., Chernin, G., Constantini, S., Cleper, R. and Ben-Shachar, S. (2016) 'High prevalence of elevated blood pressure among children with neurofibromatosis type 1', *Pediatric nephrology (Berlin, West)*, 31(1), pp. 131-136.
- Elefteriou, F., Kolanczyk, M., Schindeler, A., Viskochil, D. H., Hock, J. M., Schorry, E. K., Crawford, A. H., Friedman, J. M., Little, D., Peltonen, J., Carey, J. C., Feldman, D., Yu, X., Armstrong, L., Birch, P., Kendler, D. L., Mundlos, S., Yang, F.-C., Agiostratidou, G., Hunter-Schaedle, K. and Stevenson, D. A. (2009) 'Skeletal abnormalities in neurofibromatosis type 1: Approaches to therapeutic options', *American journal of medical genetics. Part A*, 149A(10), pp. 2327-2338.
- Evans, D. G. R., apos, Hara, C., Wilding, A., Ingham, S. L., Howard, E., Dawson, J., Moran, A., Scott-Kitching, V., Holt, F. and Huson, S. M. (2011) 'Mortality in neurofibromatosis 1: in North West England: an assessment of actuarial survival in a region of the UK since 1989', *European journal of human genetics : EJHG*, 19(11), pp. 1187-1031.

Ferner, R. E., Huson, S. M., Thomas, N., Moss, C., Willshaw, H., Evans, D. G., Upadhyaya, M., Towers, R., Gleeson, M., Steiger, C. and Kirby, A. (2007) 'Guidelines for the diagnosis and management of individuals with neurofibromatosis 1', *Journal of Medical Genetics*, 44(2), pp. 81-88.

Fossali, E., Signorini, E., Intermite, R. C., Casalini, E., Lovaria, A., Maninetti, M. M. and Rossi, L. N. (2000) 'Renovascular disease and hypertension in children with neurofibromatosis', *Pediatric Nephrology*, 14(8), pp. 806-810.

Frayling, I. M., Mautner, V.-F., van Minkelen, R., Kallionpää, R. A., Aktaş, S., Baralle, D., Ben-Shachar, S., Callaway, A., Cox, H., Eccles, D. M., Ferkal, S., LaDuca, H., Lázaro, C., Rogers, M. T., Stuenkel, A. J., Summerour, P., Varan, A., Yap, Y. S., Zehou, O., Peltonen, J., Evans, D. G., Wolkenstein, P. and Upadhyaya, M. (2019) 'Breast cancer risk in neurofibromatosis type 1 is a function of the type of NF1 gene mutation: a new genotype-phenotype correlation', *Journal of medical genetics*, 56(4), pp. 209-219.

Friedman, J. M., Arbiser, J., Epstein, J. A., Gutmann, D. H., Huot, S. J., Lin, A. E., McManus, B. and Korf, B. R. (2002) 'Cardiovascular disease in neurofibromatosis 1: Report of the NF1 Cardiovascular Task Force', *Genetics in medicine*, 4(3), pp. 105-111.

Gutmann, D. H., Ferner, R. E., Listernick, R. H., Korf, B. R., Wolters, P. L. and Johnson, K. J. (2017) 'Neurofibromatosis type 1', *Nat Rev Dis Primers*, 3, pp. 17004.

Huson, S. M., Compston, D. A., Clark, P. and Harper, P. S. (1989) 'A genetic study of von Recklinghausen neurofibromatosis in south east Wales. I. Prevalence, fitness, mutation rate, and effect of parental transmission on severity', *Journal of Medical Genetics*, 26(11), pp. 704-711.

Jouhilahti, E.-M., Peltonen, S., Heape, A. M. and Peltonen, J. (2011) 'The Pathoetiology of Neurofibromatosis 1', *American Journal of Pathology*, The, 178(5), pp. 1932-1939.

Kaas, B., Huisman, T. A. G. M., Tekes, A., Bergner, A., Blakeley, J. O. and Jordan, L. C. (2013) 'Spectrum and Prevalence of Vasculopathy in Pediatric Neurofibromatosis Type 1', *Journal of child neurology*, 28(5), pp. 561-569.

Kallionpää, R. A., Uusitalo, E., Leppävirta, J., Pöyhönen, M., Peltonen, S. and Peltonen, J. (2018) 'Prevalence of neurofibromatosis type 1 in the Finnish population', *Genetics in medicine*, 20(9), pp. 1082-1086.

Kallionpää, R. A., Uusitalo, E., Peltonen, S. and Peltonen J. (2017) 'Neurofibromatoosi 1:n syöpäalttius edellyttää valpasta seuranta', *Duodecim (Helsinki, Finland : 1961)*, 133(20), pp. 1877-1884.

Kehrer-Sawatzki, H., Mautner, V.-F. and Cooper, D. N. (2017) 'Emerging genotype–phenotype relationships in patients with large NF1 deletions', *Human genetics*, 136(4), pp. 349-376.

Kenborg, L., Duun-Henriksen, A. K., Dalton, S. O., Bidstrup, P. E., Doser, K., Rugbjerg, K., Pedersen, C., Krøyer, A., Johansen, C., Andersen, K. K., Østergaard, J. R., Hove, H., Sørensen, S. A., Riccardi, V. M., Mulvihill, J. J. and Winther, J. F. (2020) 'Multisystem burden of neurofibromatosis 1 in Denmark: registry- and population-based rates of hospitalizations over the life span', *Genetics in medicine*, 22(6), pp. 1069-1078.

Koczkowska, M. and Callens, T. and Chen, Y. and Gomes, A. and Hicks, A. D. and Sharp, A. and Johns, E. and Uhas, K. A. and Armstrong, L. and Bosanko, K. A. and Babovic-Vuksanovic, D. and Baker, L. and Basel, D. G. and Bengala, M. and Bennett, J. T. and Chambers, C. and Clarkson, L. K. and Clementi, M. and Cortés, F. M. and Cunningham, M. and apos and Agostino, M. D. and Delatycki, M. B. and Digilio, M. C. and Dosa, L. and Esposito, S. and Fox, S. and Freckmann, M. L. and Fauth, C. and Giugliano, T. and Giustini, S. and Goetsch, A. and Goldberg, Y. and Greenwood, R. S. and Griffis, C. and Gripp, K. W. and Gupta, P. and Haan, E. and Hachen, R. K. and Haygarth, T. L. and Hernández- Chico, C. and Hodge, K. and Hopkin, R. J. and Hudgins, L. and Janssens, S. and Keller, K. and Kelly-Mancuso, G. and Kochhar, A. and Korf, B. R. and Lewis, A. M. and Liebelt, J. and Lichty, A. and Listernick, R. H. and Lyons, M. J. and Maystadt, I. and Martinez Ojeda, M. and McDougall, C. and McGregor, L. K. and Melis, D. and Mendelsohn, N. and Nowaczyk, M. J. M. and Ortenberg, J. and Panzer, K. and Pappas, J. G. and Pierpont, M. E. and Piluso, G. and Pinna, V. and Pivnick, E. K. and Pond, D. A. and Powell, C. M. and Rogers, C. and Ruhrman Shahar, N. and Rutledge, S. L. and Saletti, V. and Sandaradura, S. A. and Santoro, C. and Schatz, U. A. and Schreiber, A. and Scott, D. A. and Sellars, E. A. and Sheffer, R. and Siqveland, E. and Slopis, J. M. and Smith, R. and Spalice, A. and Stockton, D. W. and Streff, H. and Theos, A. and Tomlinson, G. E. and Tran, G. and Trapane, P. L. and Trevisson, E. and Ullrich, N. J. and Van den Ende, J. and Schrier Vergano, S. A. and Wallace, S. E. and Wangler, M. F. and Weaver, D. D. and Yohay, K. H. and Zackai, E. and Zonana, J. (2020) 'Clinical spectrum of individuals with pathogenic NF1 missense variants affecting p.Met1149, p.Arg1276, and p.Lys1423: genotype–phenotype study in neurofibromatosis type 1', *Human Mutation*, 41(1), pp. 299-315.

Koczkowska, M., Callens, T., Gomes, A., Sharp, A., Chen, Y., Hicks, A. D., Aylsworth, A. S., Azizi, A. A., Basel, D. G., Bellus, G., Bird, L. M., Blazo, M. A., Burke, L. W., Cannon, A., Collins, F., DeFilippo, C., Denayer, E., Digilio, M. C., Dills, S. K., Dosa, L., Greenwood, R. S., Griffis, C., Gupta, P., Hachen, R. K., Hernández-Chico, C., Janssens, S., Jones, K. J., Jordan, J. T., Kannu, P., Korf, B. R., Lewis, A. M., Listernick, R. H., Lonardo, F., Mahoney, M. J., Ojeda, M. M., McDonald, M. T., McDougall, C., Mendelsohn, N., Miller, D. T., Mori, M., Oostenbrink, R.,

Perreault, S., Pierpont, M. E., Piscopo, C., Pond, D. A., Randolph, L. M., Rauen, K. A., Rednam, S., Rutledge, S. L., Saletti, V., Schaefer, G. B., Schorry, E. K., Scott, D. A., Shugar, A., Siqveland, E., Starr, L. J., Syed, A., Trapane, P. L., Ullrich, N. J., Wakefield, E. G., Walsh, L. E., Wangler, M. F., Zackai, E., Claes, K. B. M., Wimmer, K., van Minkelen, R., De Luca, A., Martin, Y., Legius, E. and Messiaen, L. M. (2019) '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', *Genetics in medicine*, 21(4), pp. 867-876.

Koczkowska, M., Chen, Y., Callens, T., Gomes, A., Sharp, A., Johnson, S., Hsiao, M.-C., Chen, Z., Balasubramanian, M., Barnett, C. P., Becker, T. A., Ben-Shachar, S., Bertola, D. R., Blakeley, J. O., Burkitt-Wright, E. M. M., Callaway, A., Crenshaw, M., Cunha, K. S., Cunningham, M., D'Agostino, M. D., Dahan, K., De Luca, A., Destrée, A., Dhamija, R., Eoli, M., Evans, D. G. R., Galvin-Parton, P., George-Abraham, J. K., Gripp, K. W., Guevara-Campos, J., Hanchard, N. A., Hernández-Chico, C., Immken, L., Janssens, S., Jones, K. J., Keena, B. A., Kochhar, A., Liebelt, J., Martir-Negron, A., Mahoney, M. J., Maystadt, I., McDougall, C., McEntagart, M., Mendelsohn, N., Miller, D. T., Mortier, G., Morton, J., Pappas, J., Plotkin, S. R., Pond, D., Rosenbaum, K., Rubin, K., Russell, L., Rutledge, L. S., Saletti, V., Schonberg, R., Schreiber, A., Seidel, M., Siqveland, E., Stockton, D. W., Trevisson, E., Ullrich, N. J., Upadhyaya, M., van Minkelen, R., Verhelst, H., Wallace, M. R., Yap, Y.-S., Zackai, E., Zonana, J., Zurcher, V., Claes, K., Martin, Y., Korf, B. R., Legius, E. and Messiaen, L. M. (2018) 'Genotype-Phenotype Correlation in NF1: Evidence for a More Severe Phenotype Associated with Missense Mutations Affecting NF1 Codons 844–848', *American journal of human genetics*, 102(1), pp. 69-87.

Lama, G., Graziano, L., Calabrese, E., Grassia, C., Rambaldi, P. F., Cioce, F., Tedesco, M. A., Di Salvo, G. and Esposito-Salsano, M. (2004) 'Blood pressure and cardiovascular involvement in children with neurofibromatosis type1', *Pediatric Nephrology*, 19(4), pp. 413-418.

Legius, E., Messiaen, L., Wolkenstein, P., Pancza, P., Avery, R. A., Berman, Y., Blakeley, J., Babovic-Vuksanovic, D., Cunha, K. S., Ferner, R., Fisher, M. J., Friedman, J. M., Gutmann, D. H., Kehrer-Sawatzki, H., Korf, B. R., Mautner, V.-F., Peltonen, S., Rauen, K. A., Riccardi, V., Schorry, E., Stemmer-Rachamimov, A., Stevenson, D. A., Tadini, G., Ullrich, N. J., Viskochil, D., Wimmer, K., Yohay, K., Gomes, A., Jordan, J. T., Mautner, V., Merker, V. L., Smith, M. J., Stevenson, D., Anten, M., Aylsworth, A., Baralle, D., Barbarot, S., Barker, F., Ben-Shachar, S., Bergner, A., Bessis, D., Blanco, I., Cassiman, C., Ciavarelli, P., Clementi, M., Frébourg, T., Giovannini, M., Halliday, D., Hammond, C., Hanemann, C. O., Hanson, H., Heiberg, A., Joly, P., Kalamarides, M., Karajannis, M., Kroshinsky, D., Larralde, M., Lázaro, C., Le, L., Link, M., Listernick, R., MacCollin, M., Mallucci, C., Moertel, C., Mueller, A., Ngeow, J., Oostenbrink, R., Packer, R., Papi, L., Parry, A., Peltonen, J., Pichard, D., Poppe, B.,

Rezende, N., Rodrigues, L. O., Rosser, T., Ruggieri, M., Serra, E., Steinke-Lange, V., Stivaros, S. M., Taylor, A., Toelen, J., Tonsgard, J., Trevisson, E., Upadhyaya, M., Varan, A., Wilson, M., Wu, H., Zadeh, G., Huson, S. M., Evans, D. G. and Plotkin, S. R. (2021) 'Revised diagnostic criteria for neurofibromatosis type 1 and Legius syndrome: an international consensus recommendation', *Genetics in medicine*, 23(8), pp. 1506-1513.

Leppävirta, J., Kallionpää, R. A., Uusitalo, E., Vahlberg, T., Pöyhönen, M., Peltonen, J. and Peltonen, S. (2018) 'Congenital anomalies in neurofibromatosis 1: a retrospective register-based total population study', *Orphanet journal of rare diseases*, 13(1), pp. 5-8.

Lin, A. E., Birch, P. H., Korf, B. R., Tenconi, R., Niimura, M., Poyhonen, M., Armfield Uhas, K., Sigorini, M., Viridis, R., Romano, C., Bonioli, E., Wolkenstein, P., Pivnick, E. K., Lawrence, M. and Friedman, J. M. (2000) 'Cardiovascular malformations and other cardiovascular abnormalities in neurofibromatosis 1', *American Journal of Medical Genetics*, 95(2), pp. 108-117.

Loponen, N., Ylä-Outinen, H., Kallionpää, R. A., Valtanen, M., Auranen, K., Järveläinen, H., Peltonen, S. and Peltonen, J. (2023) 'Hypertension in NF1: A closer look at the primacy of essential hypertension versus secondary causes', *Molecular genetics & genomic medicine*, 12(1), pp. e2346-e2346.

Masocco, M., Kodra, Y., Vichi, M., Conti, S., Kanieff, M., Pace, M., Frova, L. and Taruscio, D. (2011) 'Mortality associated with neurofibromatosis type 1: a study based on Italian death certificates (1995-2006)', *Orphanet journal of rare diseases*, 6(1), pp. 11-11.

Mavani, G., Kesar, V., Devita, M. V., Rosenstock, J. L., Michelis, M. F. and Schwimmer, J. A. (2014) 'Neurofibromatosis type 1-associated hypertension secondary to coarctation of the thoracic aorta', *Clin Kidney J*, 7(4), pp. 394-5.

Molina-Martin de Nicolas, J., Jurado Roman, A., Rubio Alonso, B. and Garcia Tejada, J. (2015) 'Recurrent Myocardial Infarctions Due to Thrombosis of a Coronary Aneurysm in Neurofibromatosis Type 1: Is Antiplatelet Treatment Enough?', *JACC. Cardiovascular interventions*, 8(4), pp. e55.

Norton, K. K., Xu, J. and Gutmann, D. H. (1995) 'Expression of the neurofibromatosis I gene product, neurofibromin, in blood vessel endothelial cells and smooth muscle', *Neurobiology of Disease*, 2(1), pp. 13-21.

Nunley, K. S., Gao, F., Albers, A. C., Bayliss, S. J. and Gutmann, D. H. (2009) 'Predictive Value of Café au Lait Macules at Initial Consultation in the Diagnosis of Neurofibromatosis Type 1', *Archives of dermatology (1960)*, 145(8), pp. 883-887.

- Oderich, G. S., Sullivan, T. M., Bower, T. C., Gloviczki, P., Miller, D. V., Babovic-Vuksanovic, D., Macedo, T. A. and Stanson, A. (2007) 'Vascular abnormalities in patients with neurofibromatosis syndrome type I: Clinical spectrum, management, and results', *Journal of Vascular Surgery*, 46(3), pp. 475-484.e1.
- Ortonne, N., Wolkenstein, P., Blakeley, J. O., Korf, B., Plotkin, S. R., Riccardi, V. M., Miller, D. C., Huson, S., Peltonen, J., Rosenberg, A., Carroll, S. L., Verma, S. K., Mautner, V., Upadhyaya, M. and Stemmer-Rachamimov, A. (2018) 'Cutaneous neurofibromas: Current clinical and pathologic issues', *Neurology*, 91(2_Supplement_1 Suppl 1), pp. S5-S13.
- Peltonen, S., Pöyhönen, M., Koillinen, H., Valanne, L. and Peltonen, J. (2014) 'Miten tunnistan neurofibromatoosin?', *Duodecim (Helsinki, Finland : 1961)*, 130(6), pp. 619-625.
- Pemov, A., Li, H., Patidar, R., Hansen, N. F., Sindiri, S., Hartley, S. W., Wei, J. S., Elkahloun, A., Chandrasekharappa, S. C., Boland, J. F., Bass, S., Mullikin, J. C., Khan, J., Widemann, B. C., Wallace, M. R. and Stewart, D. R. (2017) 'The primacy of NF1 loss as the driver of tumorigenesis in neurofibromatosis type 1-associated plexiform neurofibromas', *Oncogene*, 36(22), pp. 3168-3177.
- Pinna, V., Daniele, P., Calcagni, G., Mariniello, L., Criscione, R., Giardina, C., Lepri, F. R., Hozhabri, H., Alberico, A., Cavone, S., Morella, A. T., Mandile, R., Annunziata, F., Di Giosaffatte, N., apos, Asdia, M. C., Versacci, P., Capolino, R., Strisciuglio, P., Giustini, S., Melis, D., Digilio, M. C., Tartaglia, M., Marino, B. and De Luca, A. (2019) 'Prevalence, Type, and Molecular Spectrum of NF1 Mutations in Patients with Neurofibromatosis Type 1 and Congenital Heart Disease', *Genes*, 10(9), pp. 675.
- Rasmussen, S. A., Yang, Q. and Friedman, J. M. (2001) 'Mortality in Neurofibromatosis 1: An Analysis Using U.S. Death Certificates', *American journal of human genetics*, 68(5), pp. 1110-1118.
- Rodrigues, L. O., Rodrigues, L. O. C., Castro, L. L., Rezende, N. A. and Ribeiro, A. L. P. (2013) 'Non-invasive endothelial function assessment in patients with neurofibromatosis type 1: a cross-sectional study', *BMC cardiovascular disorders*, 13(1), pp. 18-18.
- Rojnueangnit, K., Xie, J., Gomes, A., Sharp, A., Callens, T., Chen, Y., Liu, Y., Cochran, M., Abbott, M. A., Atkin, J., Babovic- Vuksanovic, D., Barnett, C. P., Crenshaw, M., Bartholomew, D. W., Basel, L., Bellus, G., Ben- Shachar, S., Bialer, M. G., Bick, D., Blumberg, B., Cortes, F., David, K. L., Destree, A., Duat- Rodriguez, A., Earl, D., Escobar, L., Eswara, M., Ezquieta, B., Frayling, I. M., Frydman, M., Gardner, K., Gripp, K. W., Hernández- Chico, C., Heyrman, K., Ibrahim, J., Janssens, S., Keena, B. A., Llano- Rivas, I., Leppig, K., McDonald, M., Misra, V. K., Mulbury, J., Narayanan, V., Orenstein, N., Galvin- Parton, P., Pedro, H., Pivnick, E. K., Powell, C. M., Randolph, L., Raskin, S., Rosell, J., Rubin, K., Seashore, M., Schaaf, C. P.,

Scheuerle, A., Schultz, M., Schorry, E., Schnur, R., Siqveland, E., Tkachuk, A., Tonsgard, J., Upadhyaya, M., Verma, I. C., Wallace, S., Williams, C., Zackai, E., Zonana, J., Lazaro, C., Claes, K., Korf, B., Martin, Y., Legius, E. and Messiaen, L. (2015) 'High Incidence of Noonan Syndrome Features Including Short Stature and Pulmonic Stenosis in Patients carrying NF1 Missense Mutations Affecting p.Arg1809: Genotype–Phenotype Correlation', *Human Mutation*, 36(11), pp. 1052-1063.

Santoro, C., Di Rocco, F., Kossorotoff, M., Zerah, M., Boddaert, N., Calmon, R., Vidaud, D., Cirillo, M., Cinalli, G., Mirone, G., Giugliano, T., Piluso, G., apos, Amico, A., Capra, V., Pavanello, M., Cama, A., Nobili, B., Lyonnet, S. and Perrotta, S. (2017) 'Moyamoya syndrome in children with neurofibromatosis type 1: Italian–French experience', *American Journal of Medical Genetics Part A*, 173(6), pp. 1521-1530.

Sherekar, M., Han, S.-W., Ghirlando, R., Messing, S., Drew, M., Rabara, D., Waybright, T., Juneja, P., O'Neill, H., Stanley, C. B., Bhowmik, D., Ramanathan, A., Subramaniam, S., Nissley, D. V., Gillette, W., McCormick, F. and Esposito, D. (2020) 'Biochemical and structural analyses reveal that the tumor suppressor neurofibromin (NF1) forms a high-affinity dimer'.

Stevenson, D. A., Zhou, H., Ashrafi, S., Messiaen, L. M., Carey, J. C., D'Astous, J. L., Santora, S. D. and Viskochil, D. H. (2006) 'Double Inactivation of NF1 in Tibial Pseudarthrosis', *The American Journal of Human Genetics*, 79(1), pp. 143-148.

Tajan, M., Paccoud, R., Branka, S., Edouard, T. and Yart, A. (2018) 'The RASopathy Family: Consequences of Germline Activation of the RAS/MAPK Pathway', *Endocrine reviews*, 39(5), pp. 676-700.

Tullus, K. D., Brennan, E. R., Hamilton, G. P., Lord, R. M., McLaren, C. A. D. C. R., Marks, S. D. F. and Roebuck, D. J. F. (2008) 'Renovascular hypertension in children', *Lancet, The*, 371(9622), pp. 1453-1463.

Upadhyaya, M., Huson, S. M., Davies, M., Thomas, N., Chuzhanova, N., Giovannini, S., Evans, D. G., Howard, E., Kerr, B., Griffiths, S., Consoli, C., Side, L., Adams, D., Pierpont, M., Hachen, R., Barnicoat, A., Li, H., Wallace, P., Van Biervliet, J. P., Stevenson, D., Viskochil, D., Baralle, D., Haan, E., Riccardi, V., Turnpenny, P., Lazaro, C. and Messiaen, L. (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', *The American Journal of Human Genetics*, 80(1), pp. 140-151.

Uusitalo, E., Leppävirta, J., Koffert, A., Suominen, S., Vahtera, J., Vahlberg, T., Pöyhönen, M., Peltonen, J. and Peltonen, S. (2015) 'Incidence and Mortality of Neurofibromatosis: A Total Population Study in Finland', *Journal of Investigative Dermatology*, 135(3), pp. 904-906.

Uusitalo, E., Rantanen, M., Kallionpää, R. A., Pöyhönen, M., Leppävirta, J., Ylä-Outinen, H., Riccardi, V. M., Pukkala, E., Pitkäniemi, J., Peltonen, S. and Peltonen, J. (2016) 'Distinctive Cancer Associations in Patients With Neurofibromatosis Type 1', *Journal of clinical oncology*, 34(17), pp. 1978-1986.

Walther, M. M., Herring, J., Enquist, E., Keiser, H. R. and Linehan, W. M. (1999) 'Von Recklinghausen's disease and pheochromocytomas', *The Journal of urology*, 162(5), pp. 1582-1586.

Xu, J., Ismat, F. A., Wang, T., Yang, J. and Epstein, J. A. (2007) 'NF1 regulates a Ras-dependent vascular smooth muscle proliferative injury response', *Circulation (New York, N.Y.)*, 116(19), pp. 2148-2156.

Zinamosca, L., Petramala, L., Cotesta, D., Marinelli, C., Schina, M., Cianci, R., Giustini, S., Sciomer, S., Anastasi, E., Calvieri, S., De Toma, G. and Letizia, C. (2011) 'Neurofibromatosis type 1 (NF1) and pheochromocytoma: prevalence, clinical and cardiovascular aspects', *Archives of Dermatological Research*, 303(5), pp. 317-325.

Zöller, M., Rembeck, B., Akesson, H. O. and Angervall, L. (1995) 'Life expectancy, mortality and prognostic factors in neurofibromatosis type 1. A twelve-year follow-up of an epidemiological study in Göteborg, Sweden', *Acta Derm Venereol*, 75(2), pp. 136-40.