



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA

Sede Amministrativa: Università degli Studi di Padova

Dipartimento di *Scienze Cardiologiche, Toraciche e Vascolari*

SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE MEDICHE, CLINICHE E SPERIMENTALI
INDIRIZZO: NEUROSCIENZE
XXVIII CICLO

LA TOMOGRAFIA A COERENZA OTTICA NELLA DIAGNOSI DI GLIOMA DELLE VIE OTTICHE IN
PAZIENTI PEDIATRICI CON NEUROFIBROMATOSI DI TIPO 1

Direttore della Scuola : Ch.mo Prof. Gaetano Thiene

Coordinatore d'indirizzo: Ch.ma Prof.ssa Elena Pegoraro

Supervisore: Ch.ma Prof.ssa Elena Pegoraro

Dottoranda: Dott.ssa Olympia Kotsafti

*Στους γονείς μου και
στα αδέρφια μου*

INDICE

RIASSUNTO	1
ABSTRACT	3
INTRODUZIONE	5
1.1 Neurofibromatosi: inquadramento nosologico	5
1.2 La neurofibromatosi di tipo 1	7
1.2.1 Definizione ed epidemiologia	7
1.2.2 Eziopatogenesi	8
1.2.2.1 Ruolo della neurofibromina	8
1.2.3 Manifestazioni Cliniche	10
1.2.4 Segni oculari di neurofibromatosi di tipo 1	12
1.2.5 Criteri diagnostici di malattia	14
1.3 I gliomi	15
1.4 Il glioma nella neurofibromatosi di tipo 1	17
1.4.1 Patogenesi	17
1.4.2 Presentazione clinica	18
1.4.3 Screening e diagnosi	18
1.4.4 Follow-up dei pazienti	21
1.4.5 Indicazioni al trattamento	22
1.4.6 Terapia	22
1.4.7 Prognosi	23
1.5 La Tomografia a coerenza ottica (OCT)	25
1.5.1 Generalità	25

1.5.2 Principi fisici e funzionamento	25
1.5.3 Applicazioni dell'OCT nello studio del nervo ottico	28
1.5.4 L'OCT nello studio del glioma delle vie ottiche negli affetti da neurofibromatosi di tipo 1	29
SCOPO DELLO STUDIO	31
MATERIALI E METODI	32
3.1 Popolazione di studio.....	32
3.2 Valutazione dell'acuità visiva	33
3.3 Valutazione del disco ottico.....	35
3.4 Valutazione dello spessore dello strato delle fibre nervose retiniche peripapillari mediante tomografia a coerenza ottica.....	35
3.5 Risonanza magnetica	41
3.6 Analisi Statistica	42
RISULTATI	43
4.1 Popolazione.....	43
4.2 Valutazione dell'acuità visiva	46
4.3 Valutazione del disco ottico	47
4.4 Valutazione dello spessore dello strato delle fibre nervose retiniche peripapillari mediante tomografia a coerenza ottica.....	47
4.5 Sede del glioma delle vie ottiche e i parametri di screening ...	52
DISCUSSIONE	54
CONCLUSIONI	59
BIBLIOGRAFIA	60

RIASSUNTO

Presupposti dello studio: La neurofibromatosi di tipo 1 (NF1) è una delle malattie genetiche più frequenti nell'uomo, con un'incidenza di 1/2500 nati e viene considerata una sindrome predisponente all'insorgenza di tumori. Il glioma delle vie ottiche, istologicamente definito come astrocitoma pilocitico, un tumore di basso grado (I grado secondo WHO), colpisce il 15-20% dei pazienti affetti da NF1. Lo screening oftalmologico è cruciale nella selezione dei pazienti che necessitano dell'esecuzione della risonanza magnetica (MRI) encefalica e orbitaria di conferma, la quale rappresenta l'attuale gold-standard diagnostico. La valutazione oftalmologica dei pazienti affetti da NF1 è tuttora controversa per quanto riguarda il miglior metodo di screening per selezionare i pazienti con sospetto glioma delle vie ottiche meritevoli di conferma neuroradiologica.

Scopo dello studio: valutare prospetticamente il contributo dell'analisi dello strato delle fibre nervose retiniche peripapillari (RNFL) mediante tomografia a coerenza ottica (OCT) come strumento di screening per la diagnosi di glioma delle vie ottiche in pazienti affetti da NF1 in età pediatrica e di compararlo con quello ottenuto dagli attuali gold-standard diagnostici (misurazione dell'acuità visiva e la valutazione della papilla ottica).

Materiali e metodi: Nello studio sono stati consecutivamente inclusi centoquarantadue pazienti pediatrici affetti da NF1 (1-16 anni d'età). Tutti i pazienti sono stati sottoposti a misurazione dell'acuità visiva con metodiche adeguate all'età (Test di Lea Hyvärinen e/o Ottotipo di Snellen), alla valutazione del disco ottico mediante oftalmoscopia indiretta e alla misurazione dello spessore dello strato delle fibre nervose retiniche peripapillari mediante analisi Spectral Domain OCT (SD-OCT). Sulla base del risultato ottenuto in ogni singolo test i pazienti sono stati suddivisi in pazienti non sospetti e sospetti per la presenza di glioma delle vie ottiche. Ogni paziente risultato sospetto in almeno uno dei test eseguiti è stato sottoposto a MRI encefalo-orbite.

Risultati: Dei centoquarantadue pazienti arruolati, 37 (26.1%) pazienti sono risultati sospetti in almeno in uno dei test eseguiti e sono stati sottoposti a MRI encefalo-orbite. Trentatre pazienti sono risultati sospetti sulla base dei dati OCT, 14 sulla base dell'acuità visiva e 21 sulla base della valutazione della papilla. Trentadue pazienti sono risultati effettivamente affetti da glioma delle vie ottiche con conferma MRI. Il 96.7% dei pazienti affetti da glioma aveva uno spessore

delle fibre nervose retiniche patologico, rispetto al 41.9% dell'acuità visiva e il 59.4% dell'aspetto papillare. La valutazione dell'analisi di RNFL mediante SD-OCT, dell'acuità visiva e dell'esame della papilla ha ottenuto un valore predittivo positivo del 87.9%, 92,9% e 90,5% rispettivamente. Undici pazienti affetti da glioma sono risultati sospetti solo all'esame SD-OCT (34.4%). La superiorità dell'esame SD-OCT nell'identificazione dei gliomi delle vie ottiche appare maggiore in caso di tumori in sede pre-chiasmatica (92.3% versus 21.4% e 46.7% rispettivamente per l'acuità visiva e per la valutazione della papilla).

Conclusioni: L'analisi dello strato delle fibre nervose retiniche mediante tecnica SD-OCT è clinicamente superiore alle metodiche fino ad oggi utilizzate nello screening del glioma delle vie ottiche correlato alla NF1.

ABSTRACT

Background: Neurofibromatosis type 1 (NF1) is one of the most frequent human genetic diseases, with a worldwide birth incidence of 1/2500 and is classified as a tumour predisposition syndrome. Optic pathway glioma (OPG), histologically defined as low-grade glioma (grade I WHO), affects 15% to 20% of all NF1 patients. Ophthalmologic screening is essential in the selection of patients needing magnetic resonance imaging (MRI) of the orbital/brain, which represents the gold standard for the diagnosis of optic pathway glioma. It's still controversial which is the best ophthalmologic technique to select a subgroup pediatric patients suspected of OPG needing brain MRI.

Aim: Evaluate prospectively the value of the retinal nerve fiber layer (RNFL) analysis by optical coherence tomography (OCT) as screening technique for the detection of OPGs in NF1 pediatric patients and to compare the results with the current gold-standard diagnostic techniques: visual function assessment (VFA) and optic disc evaluation (ODE).

Material and Methods: One-hundred and forty-two consecutive pediatric patients affected by NF1 (1-16 years old) were enrolled. Patients underwent VFA (Hyvarinen symbols chart and/or Snellen charts), ODE and RNFL analysis by Spectral Domain OCT (SD-OCT). On the results in each test, patients were divided in two groups: suspected and not suspected to be affected by OPG. Patient with the alteration of at least one single test underwent orbital/brain MRI.

Results: Thirty-seven (26.1%) of 142 enrolled patients, showed an alteration of at least one single test and underwent orbital/brain MRI. Thirty-three patients showed decreased RNFL thickness by SD-OCT, 14 showed decreased visual acuity and 21 showed optic disc alterations. Thirty-two patients were finally affected by OPG by MRI: 96.7% of them showed decreased RNFL thickness by SD-OCT, compared to 41.9% that showed decreased visual acuity and 59.4% that showed optic disc alterations. Positive predictive value in detecting OPG were 87.9% for RNFL analysis by SD-OCT, 92.9% for VFA and 90.5% for ODE respectively. Eleven patients affected by OPG were suspected only by OCT (34.4%). RNFL analysis by OCT appears superior in the diagnosis of pre-chiasmatic tumors (92.3% versus 21.4% and 46.7% for VFA and ODE respectively).

Conclusions: Retinal nerve fiber layer analysis assessment using Spectral Domain OCT technique is superior to visual function assessment and optic disc evaluation as a clinical screening tool for optic pathway gliomas.

INTRODUZIONE

1.1. Neurofibromatosi: inquadramento nosologico

La neurofibromatosi è una malattia neurocutanea multisistemica ereditaria caratterizzata dal coinvolgimento di organi e tessuti di origine ectodermica (sistema nervoso, cute e occhio) [1]. Nel termine generico di neurofibromatosi viene compreso un gruppo eterogeneo di sindromi, aventi in comune alcune caratteristiche specifiche, ma rappresentanti entità distinte dal punto di vista clinico. Fino agli anni '70 del XX° secolo spesso non era possibile distinguere tra le varie forme della malattia, e termini quali “Neurofibromatosi Multipla” o “Malattia di von Recklinghausen” (dal nome del patologo tedesco F.D. Von Recklinghausen che per primo descrisse questo fenotipo patologico nel 1882) o “Facomatosi” venivano utilizzati indifferentemente per descrivere pazienti con indefinite associazioni cliniche, come macchie caffè-latte e tumori del sistema nervoso centrale e/o periferico [1,2]. Le ultime tre decadi sono state fondamentali per la caratterizzazione clinica e molecolare di queste affezioni, la cui differenziazione è indispensabile in quanto le caratteristiche biologiche, la storia naturale ed il follow-up dedicato variano a seconda delle diverse forme [3].

Attualmente il “National Institute of Health” definisce due forme principali di neurofibromatosi, caratterizzate da elementi fenotipici e genotipici distinti: la neurofibromatosi di tipo 1 (NF1) e la neurofibromatosi di tipo 2 (NF2) [4].

- Neurofibromatosi di tipo 1 (NF1; OMIM 162200): la malattia ha un'incidenza di 1 su 2500-3000 nati ed è causata da una mutazione del gene NF1 localizzato al livello del cromosoma 17 [4,5,6]. Si associa alla presenza di numerose chiazze cutanee caffè-latte, efelidi in sede ascellare e inguinale, noduli iridei di Lisch, neurofibromi, alterazioni ossee e glioma del nervo ottico [6].
- Neurofibromatosi di tipo 2 (precedentemente chiamata neurofibromatosi acustica): è una forma rara (con un'incidenza di 1 su 40000 nati), clinicamente e geneticamente distinta dalla NF1. E' caratterizzata dalla mutazione del gene NF2 presente sul cromosoma 22 e dalla presenza di tumori bilaterali del nervo acustico (schwannomi vestibolari). Raramente

si presenta con numerose chiazze caffè-latte e non si riscontrano noduli iridei di Lisch [2,4].

Si conoscono altre varianti cliniche, considerate varianti alleliche sia della NF1 che della NF2 [2,7]. Esse sono:

- Sindrome di Watson: caratterizzata da chiazze caffè-latte, bassa statura, deficit cognitivo e stenosi dell'arteria polmonare;
- Neurofibromatosi spinale familiare: caratterizzata da neurofibromi paravertebrali e sottocutanei;
- Neurofibromatosi intestinale familiare: caratterizzata da neurofibromi gastrointestinali multipli;
- Neurofibromatosi segmentale: caratterizzata da macchie caffè-latte e neurofibromi solo in alcune aree del corpo;
- Forma con macchie caffè-latte a trasmissione autosomica dominante: caratterizzata dalla presenza di sole macchie caffè-latte a trasmissione familiare;
- Forma con neurofibromi a trasmissione autosomica dominante: caratterizzata dalla presenza di soli neurofibromi a trasmissione familiare;
- Sindrome neurofibromatosi di Noonan: caratterizzata da manifestazioni sovrapposte di sindrome di Noonan (sindrome con ereditarietà autosomica dominante ed espressività variabile i cui sintomi sono: facies dismorfica, cardiopatia congenita, torace malformato, pterigium colli e ciotipo normale) e di NF1;
- Schwannomatosi: caratterizzata dalla presenza di schwannomi multipli in assenza di altre manifestazioni cliniche della NF2 (può essere sporadica o familiare);
- Schwannomatosi segmentale: caratterizzata da schwannomi multipli localizzati in aree corporee circoscritte, in assenza di altre manifestazioni cliniche di NF2 [2,7].

1.2 La Neurofibromatosi di tipo 1

1.2.1 Definizione ed epidemiologia

La neurofibromatosi di tipo 1 o Malattia di von Recklinghausen è la più frequente delle neurofibromatosi [8]. Si tratta di una sindrome clinica geneticamente determinata e caratterizzata dall'insorgenza di neoplasie multiple, benigne o maligne, più frequentemente a carico dei tessuti che costituiscono il sistema nervoso sia periferico (SNP) che centrale (SNC) [6,9]. La NF1 ha un'incidenza di 1 su 2500-3000 nati e una prevalenza di circa 1 su 3500-4000 individui [5,10]. La forma familiare è trasmessa con un'ereditarietà di tipo autosomico dominante. Tuttavia, nel 50% dei casi, si riconoscono forme de novo, in genere dovute a mutazioni sporadiche che avvengono nella linea germinale, più frequentemente a carico della linea spermatica [2]. Gli affetti da neurofibromatosi di tipo 1 sono costituzionalmente eterozigoti per una mutazione di tipo loss-of-function del gene NF1 cioè presentano aploinsufficienza per il gene NF1 [11]. I soggetti portatori del gene alterato manifestano sempre la malattia (penetranza completa), anche se di entità diversa (espressività variabile), non solo da soggetto a soggetto, ma anche all'interno della stessa famiglia. La penetranza è considerata completa a 6-8 anni di età. Pertanto, ci si aspetta che il 100% degli individui che possiedono un gene NF1 mutato manifestino, più o meno precocemente nella loro vita, sintomi rilevabili della malattia [2]. Le cause di tale variabilità sono rappresentate da:

- background genetico (polimorfismi che modulano l'entità delle manifestazioni);
- tipo di mutazione-malattia;
- fattori ambientali;
- presenza di mosaicismi [2].

L'alta variabilità fenotipica costituisce un elemento di considerevole difficoltà nel pianificare sia un approccio terapeutico che un approccio di follow-up. Inoltre, tale variabilità fa sì che la diagnosi clinica non consenta la formulazione di una prognosi specifica [12].

1.2.2 Eziopatogenesi

Ciascuna facomatosi è causata da difetti genetici diversi, accomunati tra loro dall'appartenenza alla categoria dei geni oncosoppressori [1]. La neurofibromatosi di tipo 1 è causata da mutazioni di tipo loss-of-function (delezioni o mutazioni puntiformi) del gene oncosoppressore NF1 (OMIM 613113)[6]. Esso è uno dei più estesi geni del genoma umano, composto da 350kb, e localizzato in posizione pericentromerica nel braccio lungo del cromosoma 17 (17q11.2) [6,13]. Il gene NF1 codifica per la proteina neurofibromina dotata di una massa molecolare di 327kDa ed espressa in abbondanza nei neuroni, negli oligodendrociti, nelle cellule di Schwann, in altri tessuti di derivazione neuroepiteliale e, in minor misura, nel fegato, nella milza, nel timo, nei muscoli scheletrici, nei polmoni e nella pelle [2].

1.2.2.1 Ruolo della Neurofibromina

Esistono numerosi studi che dimostrano una specifica interazione tra la neurofibromina ed i microtubuli citoplasmatici sia in vitro che in vivo [14]. Tale associazione è anche correlata allo sviluppo e alla differenziazione neuronale [15]. La neurofibromina lega una classe di proteoglicani denominati syndecan [16]. Queste proteine, largamente espresse nei neuroni e nella glia, hanno un ruolo nell'adesione intercellulare e nelle segnalazioni intracellulari, agendo spesso come recettori o co-recettori di fattori di crescita/differenziazione; sono inoltre implicate nel mantenimento e nella soppressione della crescita tumorale e, nei neuroni, promuovono la formazione dei processi dendritici. Nella *Drosophila melanogaster* la neurofibromina è coinvolta nell'attivazione dell'AMP ciclico, con effetto diretto sull'apprendimento. Anche nei mammiferi la neurofibromina contribuisce a regolare nei neuroni il livello di AMP ciclico, che a sua volta agisce modulando la crescita e la differenziazione cellulare (Figura 1) [17,18]. Tuttavia la via di trasduzione del segnale più nota in cui la neurofibromina gioca un ruolo fondamentale è la via di Ras. Essa presenta un'omologia amminoacidica con il dominio catalitico delle Guanosine Triphosphatase (GTPase) activating protein ed è coinvolta nella regolazione negativa della trasduzione del segnale RAS/RAF/MAPK (Mitogen-activated pathway protein kinase), favorendo lo shift

dallo stato attivo (legato al GTP) allo stato inattivo (legato al GDP) della proteina RAS (Figura 2)[19,20,21]

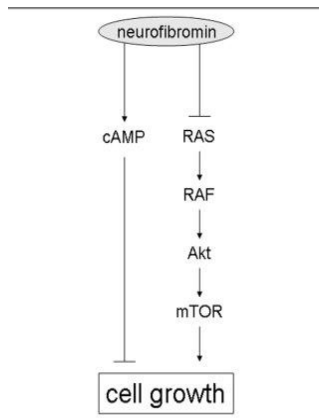


Figura 1. Controllo della crescita cellulare attraverso la regolazione dei livelli di AMP ciclico e dell'oncoproteina RAS da parte della neurofibromina [18].

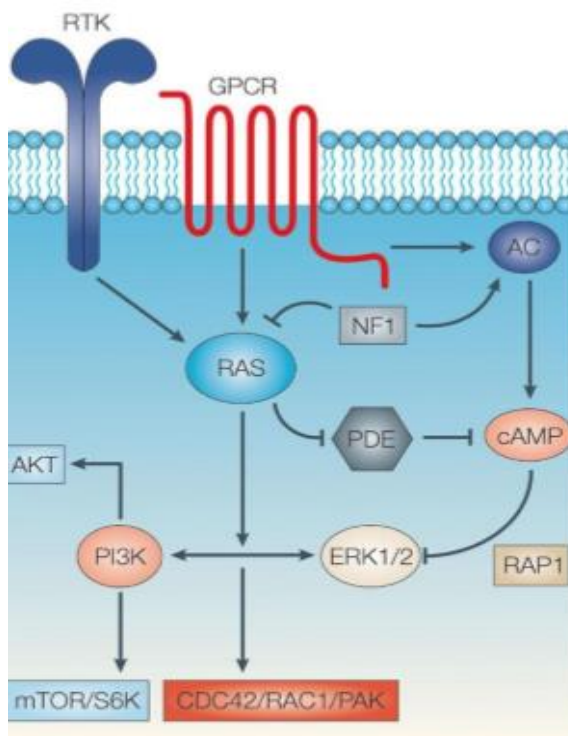


Figura 2. Via di trasduzione del segnale di RAS [22].

Alterazioni a carico della neurofibromina, tipiche dei soggetti con la neurofibromatosi di tipo 1, favoriscono quindi il mantenimento dello stato attivo di RAS portando ad un segnale aberrante di proliferazione cellulare e favorendo la genesi di molti tumori maligni.

1.2.3 Manifestazioni cliniche

Le manifestazioni cliniche della malattia sono suddivise in segni maggiori, che entrano a far parte dei criteri diagnostici, segni minori e complicanze [1,2].

I segni clinici maggiori sono:

- **Macchie caffè-latte:** lesioni cutanee pigmentate piane, ben circoscritte, congenite o acquisite, la cui persistenza è indipendente dall'esposizione alla luce solare. Hanno un diametro variabile da pochi millimetri (macchia) a molti centimetri (chiazza), di colore bruno omogeneo, chiaro o scuro, forma rotonda, poligonale, lanceolata o irregolare, bordi ben definiti e superficie liscia [23]. Si riscontrano in circa il 95% degli affetti. Aumentano di numero e grandezza fino ai 5-6 anni, poi tendono a depigmentarsi e quindi a scomparire negli individui adulti [1]. Istologicamente sono caratterizzate da un'epidermide normale, associata a lieve aumento di melanina nei cheratinociti, melanociti in numero normale o lievemente aumentato, epitelio degli annessi privo di melanina e talvolta melanofagi nel derma papillare. Vi è in genere la presenza di una quantità di melanina maggiore a quella della cute circostante; frequente, ma non costante, il reperto di granuli giganti di melanina [23].
- **lentiginosi o efelidi:** lesioni di dimensioni inferiori alle precedenti, ma con caratteristiche istologiche analoghe, localizzate a "spruzzo" a livello di ascelle, inguine o alla base del collo o del tronco [1,23].
- **noduli iridei di Lisch:** piccoli amartomi cupoliformi asintomatici, localizzati a livello irideo, riconoscibili con la lampada a fessura. Possono presentarsi di colore marrone scuro o essere depigmentati rispetto all'iride circostante; anche le dimensioni sono caratterizzate da ampia variabilità. Interessano circa il 95% degli affetti adulti [24,25].
- **neurofibromi:** tumori benigni del sistema nervoso periferico; essi aumentano di dimensioni e di numero con l'età o con variazioni ormonali cui si può andare incontro durante la gravidanza o la pubertà. Si distinguono in neurofibromi cutanei o dermici e neurofibromi nodulari o sottocutanei. I neurofibromi cutanei sono piccoli noduli superficiali, sollevati o peduncolati, di consistenza soffice e colorazione generalmente più scura rispetto alla cute circostante. Istologicamente sono tumori

benigni delle estremità terminali dei piccoli nervi cutanei, composti da cellule di Schwann, fibroblasti, cellule perineurali, mastociti e cellule endoteliali [2]. I neurofibromi nodulari, nettamente più rari, sono invece localizzati più profondamente nel tessuto sottocutaneo e presentano una consistenza duro-elastica. Interessano i tronchi nervosi periferici principali o le radici dei nervi, causando spesso deficit sensitivi o motori del nervo colpito, risultando inoltre spesso dolorosi [2].

Tra i segni clinici minori si possono elencare:

- macrocefalia;
- bassa statura;
- malformazioni del torace: pectus excavatum e pectus carinatum;
- ipertelorismo;
- piccoli angiomi a livello del tronco o delle cosce [1,2].

Le complicanze della neurofibromatosi si riscontrano solo in una minoranza degli affetti, ma possono essere gravi e sono caratteristiche dell'età infantile [1]:

- Disturbi cognitivi e del funzionamento intellettivo: nel 40-60% dei casi si riscontrano difficoltà nell'apprendimento scolastico, di linguaggio, di memoria, deficit di attenzione e di coordinazione visuo-spaziale. Un vero e proprio ritardo mentale (QI<70) è presente nel 2-3% dei casi. [1,26,27,28].
- Complicanze ortopediche: scoliosi, pseudoartrosi della tibia, displasie scheletriche dello sfenoide o delle ossa lunghe [29,30,31].
- Neurofibroma plessiforme: colpisce il 25-30% dei soggetti affetti dalla malattia. Sono lesioni benigne che infiltrano il nervo e i tessuti circostanti, comprimendo tronchi nervosi, vasi arteriosi, venosi o linfatici, e avendo spesso conseguenze esteticamente deturpanti. Nel 10-15% dei casi può evolvere in un tumore maligno della guaina dei nervi periferici (Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumor, MPNST) [32].
- Complicanze neurologiche: epilessia, cefalea, stenosi dell'acquedotto di Silvio e tumori, in particolare gliomi delle vie ottiche, del ponte e del cervelletto e meningiomi. Inoltre, è possibile riscontrare lesioni iperintense identificabili con la risonanza magnetica, dette UBO (Unidentified Bright Objects) [1,33].

- **Complicanze cardiovascolari:** Sono rappresentate da ipertensione arteriosa, emorragie cerebrali e malformazioni cardiache. Esse possono essere responsabili anche di eventi cardiovascolari gravi e della morte del paziente [34,35].

Considerata l'estrema eterogeneità di presentazione della malattia non è possibile prevederne la gravità sulla base della familiarità o delle indagini molecolari; la maggior parte dei soggetti affetti ha una qualità di vita equiparabile a quella dei coetanei sani, tuttavia l'aspettativa di vita appare ridotta a causa dell'aumentato rischio di sviluppare neoplasie.

1.2.4 Segni oculari di neurofibromatosi di tipo 1

La neurofibromatosi di tipo 1 può coinvolgere praticamente ogni distretto oculare.

1. **Interessamento orbitario:** può essere causato da uno dei seguenti aspetti sottoelencati:
 - glioma del nervo ottico: interessa il 15-20% dei pazienti, uni o bilaterale, può estendersi fino al chiasma e all'ipotalamo;
 - altri tumori nervosi: neurolemmoma, neurofibroma plessiforme e meningioma;
 - encefalocele sfeno-orbitario: causato dall'assenza delle grandi ali dello sfenoide. Esso provoca una protuberanza pulsante, non associata a soffio o fremito.
2. **Neurofibromi palpebrali:** possono essere nodulari o plessiformi e tendono a comparire precocemente. Quando interessano la palpebra superiore, essi provocano frequentemente una ptosi meccanica.
3. **Lesioni iridee:**
 - noduli di Lisch: si sviluppano soprattutto durante la seconda terza decade di vita e sono infine presenti nel 95% dei casi;
 - ectropion congenito dell'uvea: infrequente, occasionalmente associato a glaucoma;
 - mammellonature: rare
4. **Prominenza dei nervi corneali.**

5. Glaucoma: relativamente raro, quando è presente è di solito unilaterale e congenito. Circa il 50% dei pazienti con glaucoma manifesta un neurofibroma ipsilaterale della palpebra superiore ed emiatrofia facciale.
6. Lesioni retinocoroideali:
 - nevi coroideali: possono essere multifocali e bilaterali, sono comuni e comportano un aumento del rischio di successivo sviluppo di melanoma;
 - astrocitomi retinici: identici a quelli presenti nei pazienti affetti da sclerosi tuberosa; sono rari [36].

1.2.5 Criteri diagnostici di malattia

Attualmente per porre diagnosi di neurofibromatosi di tipo 1 devono essere presenti almeno due dei seguenti segni, definiti dal “National Institute of Health”[4].

1. Sei o più macchie caffè-latte:
 - maggiori di 5 mm in bambini prepuberi;
 - maggiori di 15 mm in adolescenti e adulti.

2. Due o più neurofibromi di tipo diverso o un singolo neurofibroma plessiforme;

3. Lentiggini ascellari e/o inguinali;

4. Glioma del nervo ottico;

5. Due o più noduli di Lisch;

6. Alterazioni ossee, con assottigliamento delle ossa lunghe, con o senza pseudoartrosi o displasia dello sfenoide;

7. Un parente di primo grado affetto che corrisponda ai criteri di diagnosi sopra citati.

Tali criteri diagnostici possono essere applicati anche in soggetti in età pediatrica inferiore ai sei anni, in cui non è ancora stata raggiunta una completa manifestazione della malattia [4,37]. Nel paziente adulto, infatti, la diagnosi è generalmente più semplice rispetto al paziente pediatrico, in quanto nel bambino spesso le macchie caffè-latte rappresentano l'unica manifestazione clinica di malattia, mentre i classici noduli di Lish o i neurofibromi compaiono solo nella tarda infanzia [38]. La diagnosi clinica quindi è età dipendente (Figura 3).

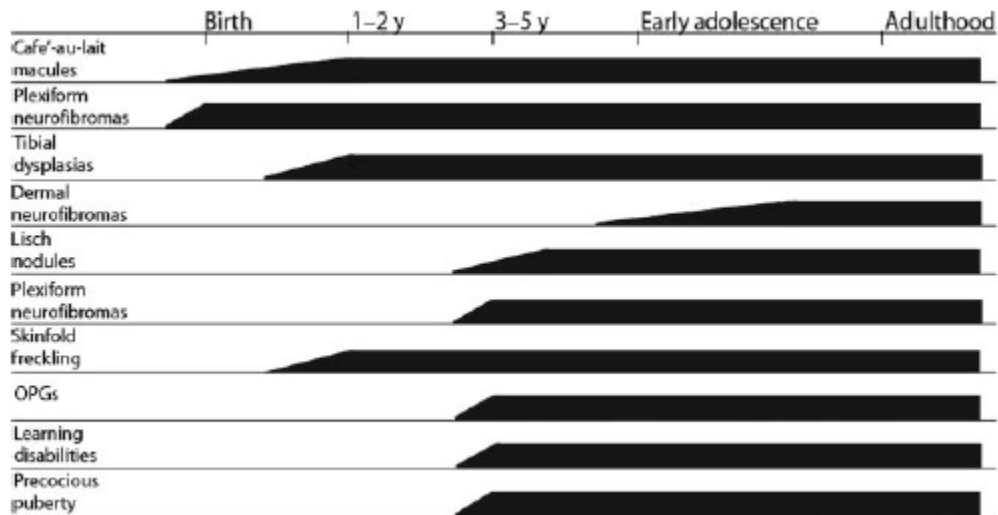


Figura 3. Età di insorgenza di alcune caratteristiche della neurofibromatosi di tipo 1, dati forniti dal NIH [5].

1.3 I gliomi

I tumori del sistema nervoso centrale rappresentano il 2% di tutti i tumori e hanno un'incidenza di 10 nuovi casi ogni 100000 abitanti/anno. Non sono note associazioni con particolari fattori carcinogenetici ambientali [39].

I tumori primitivi, in base loro origine istotipica, possono essere divisi in non gliali e gliali, i gliomi appunto, che costituiscono circa il 50' 60% di tutti i tumori del SNC [40]. I gliomi derivano dalle cellule gliali, rappresentate dagli astrociti (con funzione nutritiva e di sostegno per i neuroni), dagli oligodendrociti (deputati ai processi di mielinizzazione a livello centrale) e dalle cellule ependimali (costituiscono la parete del sistema ventricolare e sono implicate nella produzione e nel riassorbimento del liquor). Contrariamente ai neuroni, che sono cellule perenni, queste si riproducono continuamente per mitosi. Ciò spiega la loro maggiore capacità carcinogenetica [39].

I gliomi rappresentano un gruppo molto eterogeneo di lesioni, comprendendo sia forme maligne e rapidamente fatali che forme benigne. L'ultima stadiazione proposta dalla "World Health Organisation" risale al 2007 e si basa sulle caratteristiche istologiche della lesione, in particolare:

- atipie nucleari;
- numero di mitosi;
- proliferazione endoteliale;
- necrosi [39].

In base a questa classificazione è possibile identificare gliomi di basso grado (LGG) che corrispondono al I e II grado WHO e gliomi di alto grado corrispondenti al III e IV grado WHO [41].

I gliomi di basso grado rappresentano il tumore cerebrale più comune nel bambino, costituendo circa il 50% dei tumori del SNC nella popolazione pediatrica [42]. Dal punto di vista istologico sono rappresentati soprattutto dall'astrocitoma pilocitico e dall'astrocitoma fibrillare, ma si possono riscontrare anche oligodendrogliomi, ependimomi e forme miste come i gangliogliomi [42].

Le sedi preferenziali di presentazione sono il tronco, il cervelletto e le vie ottiche. La sintomatologia associata ai gliomi di basso grado è rappresentata da deficit neurologici, deficit neuro-cognitivi, eventi neuro-vascolari e disfunzioni endocrine.

Per la diagnosi di questo tipo di tumore si ricorre alla risonanza magnetica che evidenzia la presenza di lesioni ipointense nelle sequenze pesate T1 e iperintense nelle sequenze pesate T2 [43]. La terapia di scelta, dove possibile, è rappresentata dalla chirurgia, che si rivela curativa in caso di resezione completa [44]. Nell'eventualità in cui non sia possibile procedere chirurgicamente per il rischio di causare gravi conseguenze neurologiche, è preferito un approccio chemioterapico, in genere l'associazione Carboplatino-Vincristina (CV) [45].

I gliomi di altro grado sono riscontrati con maggiore frequenza nei soggetti adulti. Sono rappresentati soprattutto dall'astrocitoma anaplastico e dal glioblastoma multiforme [46]. I sintomi di presentazione sono analoghi a quelli citati per i gliomi di basso grado. Per la diagnosi, il ruolo fondamentale è svolto ancora una volta dalla risonanza magnetica, alla quale il tumore appare ipo/iso-intenso nelle sequenze pesate T1 e iperintenso nelle sequenze pesate T2, mostra inoltre un'intensa captazione del Gadolino con la possibilità di evidenziare segni di necrosi [42]. Il trattamento prevede la migliore escissione chirurgica possibile, seguita da radioterapia e da chemioterapia adiuvante [46,47]. La prognosi di queste lesioni resta ancora oggi spesso infausta.

1.4 Il glioma nella neurofibromatosi di tipo 1

La neurofibromatosi di tipo 1 è considerata una sindrome predisponente lo sviluppo di neoplasie, e infatti si associa ad un aumentato rischio di sviluppare sia tumori benigni che maligni [6,48]. Il glioma nei pazienti con neurofibromatosi di tipo 1 è un tumore a basso grado di malignità. A livello istotipico può presentarsi sotto forma di astrocitoma pilocitico (grado I WHO) o di astrocitoma fibrillare (grado II WHO). Gliomi ad alto grado compaiono raramente in questo tipo di pazienti [18,49]. Il glioma delle vie ottiche colpisce dal 15% al 20% degli affetti da neurofibromatosi di tipo 1 [50]. Nel 65% dei casi il glioma viene diagnosticato al di sotto dei 6 anni di età (ma dati di letteratura evidenziano come possa presentarsi a qualsiasi età nei soggetti affetti da questa sindrome) [18,51].

1.4.1 Patogenesi

Nei pazienti con NF1 il glioma è causato dalla mutazione del gene NF1 che codifica per la proteina neurofibromina [18,49]. Questa è responsabile del controllo della crescita cellulare attraverso la regolazione di due importanti vie di segnale intracellulare:

- modula positivamente il livello di AMP ciclico, il quale inibisce la crescita cellulare in alcuni tipi di cellule tra cui gli astrociti;
- regola negativamente l'oncoproteina RAS, anch'essa responsabile della crescita cellulare [18].

Nelle cellule prive di neurofibromina vi è una riduzione dei livelli di AMP ciclico e un aumento dell'attivazione di RAS e dei prodotti intermedi della sua via di trasduzione del segnale, tra i quali RAF, Akt, ed mTOR. Tutto ciò si traduce nel successivo aumento della crescita e della sopravvivenza cellulare.

1.4.2 Presentazione clinica

Il glioma delle vie ottiche è caratterizzato da pattern di crescita differenti, e anche la presentazione clinica è molto variabile. Parallelamente a molti casi del tutto privi di sintomatologia, in circa il 30% dei pazienti è possibile riscontrare la presenza di segni e sintomi del tumore [52,53]. I bambini affetti da glioma delle vie ottiche sintomatico presentano in genere anomalie oftalmologiche al momento della diagnosi che possono essere rappresentate da riduzione dell'acuità visiva, modificazione della percezione dei colori, strabismo, nistagmo, esoftalmo, pallore del disco ottico, alterazioni del riflesso foveale e papilledema [18,49].

Raramente i bambini in tenera età lamentano sintomi in caso di riduzione dell'acuità visiva, da ciò deriva la necessità di adottare misure oggettive e riproducibili per identificare precocemente i soggetti potenzialmente affetti. Si possono inoltre riscontrare anomalie endocrinologiche come la pubertà precoce o lo sviluppo tardivo; sequele neurologiche come l'emiparesi e l'atassia; l'idrocefalo; la cefalea; la macrocefalia e la sindrome diencefalica [18,49,54]. La pubertà precoce è tipica delle forme NF1-correlate con coinvolgimento ipotalamico [18,49].

1.4.3 Screening e diagnosi

Per quanto riguarda la diagnosi di glioma delle vie ottiche e la valutazione della sua progressione, il ruolo determinante è svolto dalla risonanza magnetica dell'encefalo e delle orbite con e senza somministrazione di mezzo di contrasto. [18,49,55]. Tale indagine di neuroimaging è riservata ai casi in cui viene documentata la presenza di anomalie all'esame oftalmologico di screening che è rappresentato dalla misurazione dell'acuità visiva, dall'esecuzione di perimetrie automatiche e dall'osservazione del fundus oculi con oftalmoscopio indiretto in midriasi pupillare (Tabella 1, Tabella 2) [18].

La riduzione dell'acuità visiva è considerata la più importante dimostrazione clinica di glioma delle vie ottiche, per questo ripetute valutazioni dell'acuità visiva rappresentano il modo migliore per monitorare questi pazienti [18].

In genere, l'acuità visiva migliora con l'aumentare dell'età. I normali range di acuità visiva per età non devono essere inferiori ai 5/10 (0.3 logMAR) nei soggetti

di tre anni; di 6-7/10 (0.2 logMAR) nei soggetti di quattro anni; di 8/10 (0.1 logMAR) nei soggetti di cinque anni e di 10/10 (0.0 logMAR) nei soggetti dai sei anni in su. I bambini sintomatici possono essere identificati come quelli con un'acuità visiva inferiore a due linee rispetto al normale in un occhio [56].

Se viene rilevata una riduzione dell'acuità visiva e se sono stati esclusi errori refrattivi, cause oculari o la presenza di ambliopia si raccomanda di eseguire una risonanza magnetica encefalo-orbite [18].

E' importante tener presente che nei soggetti con glioma delle vie ottiche la riduzione dell'acuità visiva si accompagna ad una riduzione della sensibilità ai colori. Partendo da questo presupposto una perdita dell'acuità visiva non associata alla presenza di discromatopsia suggerisce la presenza di errori refrattivi, ambliopia, disordini funzionali o mancanza di collaborazione [18].

L'utilizzo della perimetria automatica computerizzata (campo visivo) come metodo diagnostico è tuttora molto discusso. Infatti, la maggior parte dei bambini incontra delle difficoltà nell'esecuzione dell'esame a causa della lunghezza e della monotonia del test, incorrendo così in un elevato numero di errori di fissazione e falsi positivi che rendono il risultato dell'esame, la maggior parte delle volte, non attendibile [57]. L'esecuzione del campo visivo (e in modo minore anche la misurazione dell'acuità visiva) richiede la collaborazione del paziente. Molti bambini con NF1 però sono affetti da ritardo mentale da moderato a severo e da difficoltà di attenzione [27]. Tale situazione riduce l'attendibilità di tutti i test che necessitano di collaborazione da parte del paziente e, in particolar modo, dei test funzionali.

Per ovviare a questo tipo di problema potrebbe essere utile ricorrere a metodologie oggettive come la valutazione della papilla ottica e del riflesso foveale, ma questi esami, essendo scarsamente sensibili e strettamente legati all'esperienza dell'esaminatore, permettono di identificare solo i casi con malattia avanzata [18,49,58].

Come già riportato la conferma della presenza del tumore deriva dall'esecuzione della risonanza magnetica. In genere le lesioni appaiono iso/ipointense nelle sequenze pesate T1 e iperintense nelle sequenze pesate T2 [55,59]. Benchè l'assunzione del mezzo di contrasto possa essere variabile, l'ipercaptazione del Gadolino e la presenza di componenti cistiche sono più comuni nell'astrocitoma pilocitico sporadico rispetto alle forme NF1-associate [49]. I nervi ottici interessati appaiono ingrossati e assumono un aspetto fusiforme. Nel caso di

coinvolgimento del chiasma si può notare un suo allargamento o la presenza di una massa sovra-sellare. L'allargamento delle radiazioni ottiche può essere indicativo di glioma in questa sede [55].

La risonanza magnetica tradizionale non è in grado di predire la prognosi e l'evoluzione di questi tumori. A questo scopo sono in fase di studio la RM di diffusione (DWI) e la PET-TAC. Con la DWI si è visto che i gliomi che presentano maggiore permeabilità sono i più aggressivi, necessitano pertanto di controlli ravvicinati. La PET-TAC evidenzia invece che le masse con maggiore captazione di fluorodesossiglucosio sono più aggressive [49,55].

Tabella 1. Livelli di evidenza dell'Evidence Based Medicine [18].

Category, Grade	Definition
Strength of Recommendation	
A	Good evidence to support a recommendation for use
B	Moderate evidence to support a recommendation for use
C	Poor evidence to support a recommendation
D	Moderate evidence to support a recommendation against use
E	Good evidence to support a recommendation against use
Quality of Evidence	
I	Evidence from ≥ 1 properly randomized, controlled trial
II	Evidence from ≥ 1 well-designed clinical trial, without randomization; from cohort or case-controlled analytic studies (preferably from >1 center); from multiple time series; or from dramatic results of uncontrolled experiments
III	Evidence from opinions of respected authorities, based on clinical experience, descriptive studies, or reports of expert committees

Tabella 2. Indicazioni per la diagnosi e la gestione del glioma delle vie ottiche nei pazienti pediatrici affetti da neurofibromatosi di tipo 1 [18].

Screening of asymptomatic children with NF1 for OPG

1. Baseline "screening" neuroimaging or visual-evoked potentials of asymptomatic children with normal visual examinations is not warranted. (A-III)
2. All children with NF1 younger than 8 years should undergo an annual ophthalmological examination that should include measurement of visual acuity, confrontation visual field evaluation, color vision testing, and assessment of pupils, eyelids, ocular motility, irises, and fundi. Formal computerized or kinetic testing of visual fields may be adjunctive if the patient is reliable, but is not necessary. It is recommended that these evaluations be performed by an ophthalmologist or neuro-ophthalmologist skilled in testing young children with NF1 whenever possible. (A-II)
3. Children ≥ 8 years of age are at a significantly lower risk for the development of OPG. The interval at which ophthalmological examinations should be performed and at what age they may be discontinued is unknown. Until new evidence is presented, it is recommended that children in this age group should receive complete eye examinations every 2 years until 18 years of age. (B-III)
4. No specialized ophthalmological follow-up is necessary for adults with NF1 except for routine eye care. (A-III)
5. All children with NF1 should undergo yearly measurements of weight and height plotted on standard growth charts, looking for the first sign of precocious puberty. (A-III)
6. There is insufficient information available to make an evidenced-based recommendation on the evaluation of children younger than 1 year.
7. In those uncommon situations where reliable eye examinations cannot be obtained, there may be a role for neuroimaging. Further study of neuroimaging in this context is warranted. (B-III)

Evaluation of children with suspected OPG

8. Once an ophthalmological abnormality is detected and confirmed, MRI of the brain with dedicated views of the orbits is the appropriate imaging modality. There is no role for the use of VEP in the diagnosis or follow-up of children with OPG. (A-II)

Longitudinal follow-up of children with known NF1-associated OPG

9. Because the follow-up and management of children with NF1-associated OPG is complex, they all should be cared for in centers that have significant experience in the treatment of NF1 and childhood cancer, as well as by pediatric ophthalmologists or neuro-ophthalmologists who have significant experience with children who have NF1. (A-III)
10. The previously recommended intervals between MRI and ophthalmological examinations have varied. Typically, once the diagnosis has been established, children should have eye examinations every 3 months for the first year after diagnosis and at increasing intervals thereafter. MRI examinations may be performed at similar or less frequent intervals depending on institutional preference. (A-III)

Treatment of children with NF1-associated OPG

11. No universal agreement has been reached as to what constitutes "progressive disease" (eg, radiographic evidence of tumor growth, decreasing visual acuity, or a combination of the two). Except in those rare cases in which the reliability of serial ophthalmological examinations is limited (eg, children < 1 year of age), treatment of symptomatic NF1-associated OPG should be instituted only when there is clear evidence of progressive disease. A change in the pattern of contrast enhancement on MRI is not an indication for treatment. (A-II)
12. Chemotherapy should be the first-line therapy for children with progressive NF1-associated OPG. Currently, the recommended initial therapy includes a combination of carboplatin and vincristine. (A-II)
13. Radiation therapy is not recommended for NF1-associated OPG, because of the risk for secondary malignancies and radiation-induced vasculopathy, unless all chemotherapeutic treatment options have been exhausted. (A-II)
14. Surgical removal of part of the intraorbital optic nerve can be performed in NF1-associated optic nerve glioma for cosmetic purposes or to treat corneal exposure. In those cases, indications include a large degree of proptosis and a blind or near-blind eye. (B-III)

Ratings are in parentheses following recommendations.

NF1 = neurofibromatosis type 1; OPG = optic pathway glioma; MRI = magnetic resonance imaging; VEP = visual-evoked potential.

1.4.4 Follow-up dei pazienti

Ci sono ancora molti punti da chiarire per quanto riguarda la durata dello screening dei pazienti asintomatici. Considerato che nella maggior parte dei casi i tumori si presentano nei soggetti al di sotto dei sei anni, la attuali linee guida suggeriscono di procedere con controlli annuali fino agli otto anni di età, per poi ridurre la frequenza ad una visita ogni ventiquattro mesi [18]. Nei soggetti in cui sia già stata fatta diagnosi di glioma si raccomanda di procedere con controlli trimestrali fino al primo anno dalla diagnosi, si può poi considerare di allungare l'intervallo tenendo in considerazione il sito del tumore, in grado di riduzione dell'acuità visiva e l'evidenza di progressione (Tabella 1, Tabella 2) [18]. I

controlli seriali volti a valutare un peggioramento delle condizioni cliniche e l'aumento delle dimensioni tumorali sono cruciali per discriminare la necessità di trattamento.

1.4.5 Indicazioni al trattamento

Non esistono linee guida consolidate circa la necessità di eseguire un trattamento per il glioma. Pazienti asintomatici possono restare tali per tutta la vita e non necessitare mai di alcun trattamento [18,60]. Studi recenti hanno dimostrato che disturbi progressivi che conducono al trattamento si presentano in percentuali variabili [52,61]. Le indicazioni al trattamento sono rappresentate dalla progressione neuroradiologica e dal peggioramento delle condizioni cliniche del paziente. Questi parametri vengono considerati singolarmente in alcuni centri, in altri è importante l'associazione dei due per poter procedere [18,52].

La progressione neuroradiologica può essere definita come un aumento delle dimensioni del tumore, una maggiore estensione lungo le vie ottiche o il coinvolgimento ipotalamico, o un cambiamento nel pattern di enhancement. Similmente, la progressione clinica viene definita come l'insorgenza di nuovi sintomi o l'insorgenza di anomalie endocrinologiche, un cambiamento isolato dell'acuità visiva o un restringimento del campo visivo associato con una perdita di acuità visiva (Tabella 1, Tabella 2) [18,52,62].

1.4.6 Terapia

Anche per quanto riguarda la terapia non esiste un consenso unanime. Infatti, nei vari centri, esistono protocolli di trattamento talvolta anche molto differenti (Tabella 1, Tabella 2) [18]. La chemioterapia rappresenta il trattamento di prima linea nei bambini con glioma delle vie ottiche e sembra ridurre la necessità di sottoporre il paziente a radioterapia [18,49,63]. La combinazione Carboplatino-Vincristina (CV) costituisce la chemioterapia di prima scelta, dimostratasi efficace nel controllo della progressione dei gliomi di basso grado ed è associata ad una minima tossicità. I benefici di questa terapia, oltre che in termini prognostici, sono

rappresentati dall'aumento dell'acuità visiva (documentato in alcuni casi) e dalla regressione radiologica della massa. Poiché una piccola percentuale di pazienti si dimostra intollerante/non rispondente al Carboplatino, sono stati identificati altri regimi terapeutici, come l'uso del solo Temozolamide o la combinazione di Procarbazina, Vincristina, 6-Tioguanina, Lomustina (CCNU)[63,64,65,66,67].

La radioterapia è una procedura terapeutica valutabile per il trattamento dei bambini di età maggiore ai cinque anni e per i tumori progressivi del chiasma. Purtroppo sono descritti numerosi effetti collaterali dal punto di vista oculare (occhio secco, glaucoma neovascolare, cataratta, retinopatia e neuropatia ottica da radiazioni), vascolare, endocrinologico e neurofisiologico. Inoltre, quest'approccio aumenta il rischio di sviluppare neoplasie maligne secondarie nel campo di irraggiamento [18,49,68,69].

La terapia chirurgica è riservata ai pazienti con glioma del chiasma o dell'ipotalamo in grado di causare idrocefalo conseguente alla compressione del terzo ventricolo. Dal momento che i gliomi dei nervi ottici raramente si estendono al resto delle vie ottiche, il trattamento chirurgico è limitato a pazienti con esoftalmo al fine di proteggere la superficie corneale dall'esposizione e di migliorare l'estetica del volto. Il rischio connesso con la chirurgia è rappresentato dalla perdita della capacità visiva [18].

Attualmente sono in fase di studio terapie biologiche con il fine di controllare la via di trasduzione del segnale di RAS, in particolare il target molecolare della rapamicina, mTOR, e farmaci antiangiogenetici [49].

1.4.7 Prognosi

E' difficile predire la storia naturale del glioma delle vie ottiche nei pazienti con NF1 [70]. Infatti, è possibile riscontrare sia una stabilizzazione, sia una progressione, sia la regressione spontanea della massa [49,71]. Studi recenti dimostrano che i tumori asintomatici diagnosticati durante procedure di screening neuroradiologico, non hanno la tendenza a crescere e a provocare sintomi [18]. Dal punto di vista prognostico è importante considerare la sede del glioma: dai dati di letteratura risulta infatti che tumori coinvolgenti i tratti ottici e l'ipotalamo siano associati a perdita di vista nel 62%, presente invece solo nel 32% dei pazienti con tumori dei nervi ottici o del chiasma [56]. Inoltre, i pazienti in cui

l'insorgenza del tumore avviene dopo i dieci anni di età, hanno maggiori probabilità di presentare sintomi progressivi con la necessità di ricorrere al trattamento [18]. I gliomi delle vie ottiche raramente metastatizzano allo spazio sub aracnoideo [54,72]. Nella maggioranza dei casi quindi la prognosi dei bambini con NF1 affetti da glioma è ottima, nei casi sporadici il tumore è più aggressivo e progredisce più frequentemente [70].

1.5 La tomografia a coerenza ottica (OCT)

1.5.1 Generalità

La tomografia a coerenza ottica (Optical Coherence Tomography, OCT) è una tecnica diagnostica di introduzione relativamente recente, che fornisce immagini ad alta risoluzione, nella scala dei micron, di sezioni trasversali della retina in vivo. Permette di valutare modificazioni quantitative e qualitative sia della regione maculare che delle fibre del nervo ottico (Retinal Nerve Fiber Layer, RNFL) [73,74]. La tecnica OCT è stata per la prima volta riportata da Huang et al. nel 1991 al Massachusetts Institute of Technology di Boston [75]. Le modalità di azione dell'OCT sono simili a quelle dell'esame con ultrasuoni B ma, a differenza di questa, misura la riflessione della luce, e non dell'onda sonora, proveniente dagli strati retinici. Rispetto all'oftalmoscopia e all'esame con ultrasuoni B possiede una risoluzione spaziale maggiore, un tempo di acquisizione inferiore (ogni sezione ottica dura una frazione di secondo) e utilizza un raggio luminoso evitando il contatto diretto con la superficie oculare [76,77]. Il suo impiego permette di ottenere una precisa distinzione degli strati retinici, paragonabile (ma non sovrapponibile) a quella istologica, grazie all'alta definizione del sistema [78].

Le tomografie ottiche della retina sono altamente riproducibili. Alcuni punti di repere posti sul margine della papilla o sui vasi principali permettono di ritrovare la localizzazione esatta delle tomografie. Lo strumento è facile da adoperare e la curva di apprendimento dell'OCT è molto breve [78].

1.5.2 Principi fisici e funzionamento

L'OCT è una metodica basata sul principio dell'interferometria a bassa coerenza, un fenomeno dimostrato da Sir Isaac Newton [73]. La procedura è analoga a quella dell'esame con Ultrasuoni B ma, utilizzando onde luminose anziché onde sonore, permette di misurare l'intensità ed il ritardo temporale degli echi di luce riflessa dai tessuti. Il primo strumento OCT introdotto nella pratica clinica è il Time Domain OCT (TD-OCT), che si basa sull'Interferometro di Michelson (Figura 4)[73].

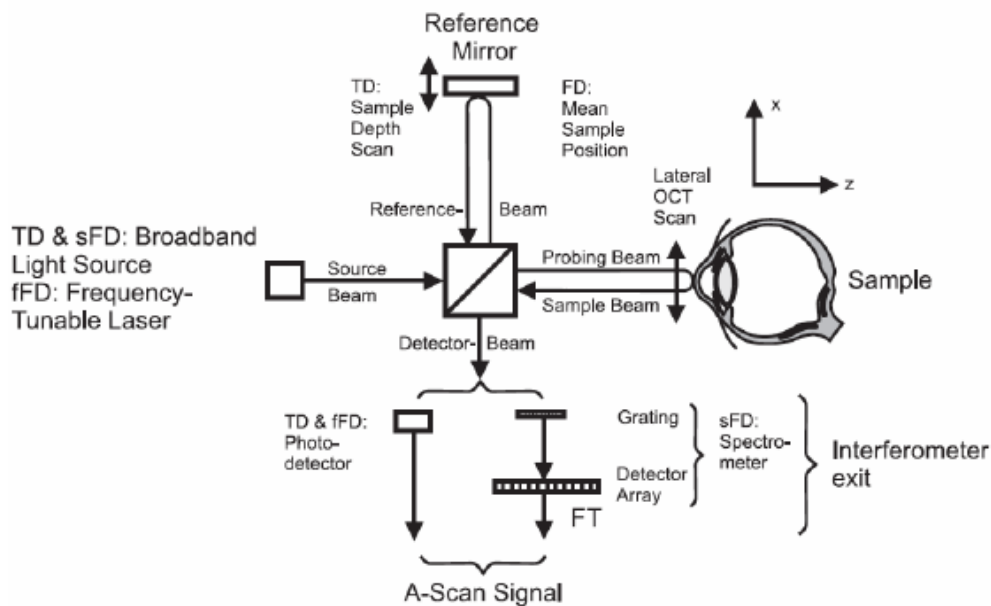


Figura 4. Interferometro di Michelson [76].

Un tomografo proietta sulla retina un fascio luminoso a bassa coerenza con lunghezza d'onda vicina a quella dell'infrarosso generato da un diodo superluminescente (843 nm) [79]. Tale fascio attraversa uno specchio semi-riflettente, che lo divide in due raggi: uno di misurazione e uno di riferimento. Il raggio di misurazione, diretto verso l'occhio in analisi, attraversa la pupilla ed è riflesso dai tessuti oculari in modo diverso, a seconda della loro distanza e delle loro caratteristiche di densità e spessore, mentre il raggio di riferimento è riflesso da uno specchio che oscilla longitudinalmente. Entrambi i raggi ritornano allo specchio semi-riflettente all'incirca nello stesso momento, ricombinano nell'interferometro e sono trasmessi ad un fotorilevatore. L'interferenza costruttiva tra gli impulsi di luce riflessa dalle strutture retiniche e dallo specchio di riferimento avviene solo se tali impulsi raggiungono l'interferometro nello stesso tempo e solo allora si possono rilevare il segnale e l'intensità risultanti. L'interferometro rileva elettronicamente, raccoglie, elabora e memorizza gli schemi di ritardo dell'eco provenienti dalla retina [73]. L'immagine bidimensionale (tomogramma) rappresenta una sezione trasversale del tessuto analizzato dal fascio di luce. I tomogrammi vengono analizzati in tempo reale in una scala di falsi colori che rappresenta il grado di riflettività dei tessuti posti a diversa profondità. Le strutture altamente riflettenti sono visualizzate con colori

brillanti come bianco o rosso (strato delle fibre nervose ed epitelio pigmentato retinico); quelle poco riflettenti sono rappresentate da colori più scuri come nero o blu (strato dei fotorecettori e nucleari interno ed esterno); mentre quelle mediamente riflettenti appaiono grigio-bianche o verdi (strati plessiformi interno ed esterno) [36,80]. Gli strati retinici che vengono segmentati mediante l'OCT dall'interno verso l'esterno sono:

- Strato delle fibre nervose (RNFL): dalla membrana limitante interna (ILM) al confine con lo strato delle cellule ganglionari;
- Strato delle cellule ganglionari (GCL): dal confine con lo strato delle fibre nervose a quello con lo strato plessiforme interno;
- Strato plessiforme interno (IPL): dal confine con lo strato delle cellule ganglionari a quello con lo strato nucleare interno;
- Strato nucleare interno (INL): dal confine con lo strato plessiforme interno a quello plessiforme esterno;
- Strato plessiforme esterno (OPL): dal confine con lo strato nucleare interno a quello nucleare esterno;
- Strato nucleare esterno (ONL): dal confine con lo strato plessiforme esterno a quello con la membrana limitante esterna (ELM)[81].

Il TD-OCT realizza 400 A-scan (scansioni monodimensionali) al secondo e le immagini B-scan (scansioni bidimensionali) hanno una risoluzione assiale di 10 μm . Ciò rende impossibile visualizzare le lesioni retiniche più lievi e la distinzione del complesso EPR-membrana di Bruch [82].

Negli ultimi anni si è resa disponibile una nuova tecnologia di acquisizione detta Fourier Domain OCT (FD-OCT) o Spectral Domain OCT (SD-OCT). Un tipico sistema Spectral (SD OCT) è molto simile ad un TD OCT. Il movimento dello specchio di riferimento è eliminato ed il fotorivelatore viene sostituito con uno spettrometro, che registra le variazioni spettrali del segnale rilevato [83].

L'informazione fornita dallo spettrometro è convertita in profondità dalla trasformazione di Fourier, un'operazione che consiste in una serie di formule in grado di scomporre una qualunque onda nella sommatoria delle armoniche che concorrono a formarla. Misura gli echi di luce simultaneamente, arrivando fino a 40000 A-scan al secondo, con una risoluzione delle immagini B-scan tra 1 e 5 μm

Mentre gli OCT Time Domain sono caratterizzati da un meccanismo in cui il percorso della luce è misurato da specchi in movimento, gli Spectral Domain hanno specchi fissi. I vantaggi principali introdotti dall'utilizzo di questa nuova tecnologia sono: un aumento della sensibilità di rilevazione, la riduzione dei tempi di acquisizione delle immagini, migliori definizioni tissutali, la riduzione di artefatti a causa dei movimenti dell'occhio e consente di mappare in modo più preciso il nervo ottico [82,84].

Gli OCT di ultima generazione, oltre agli strati retinici, rendono possibile la segmentazione della porzione recettoriale dei coni e dei bastoncelli e l'osservazione della membrana di Bruch. Inoltre con la metodica Enhanced Depth Imaging (EDI), permettono di valutare la presenza di cambiamenti strutturali a livello della coroide e della lamina cribrosa [81].

1.5.3 Applicazioni dell'OCT nello studio del nervo ottico

La tomografia a coerenza fornisce rapidamente una misura (in micron) quantitativa e riproducibile dello strato delle fibre nervose retiniche peripapillari e di ogni quadrante (temporale, inferiore, nasale, superiore), permettendo di documentare e quantificare aumenti o riduzioni dello spessore delle fibre stesse a livello del disco ottico [85,86]. I range di normalità prendono come riferimento un database normativo per occhi normali, divisi per età, sesso, razza. [81,87,88]

Permette inoltre di eseguire la valutazione delle dimensioni e della morfologia della papilla ottica mediante l'esecuzione di scansioni lineari [81]. Studi clinici hanno evidenziato che l'assottigliamento dello strato delle fibre nervose retiniche e la riduzione del volume nella macula si associano alla diminuzione della stereopsi e della funzione visiva, come può essere evidenziato mediante la valutazione dell'acuità visiva e l'esame del campo visivo [89,90,91,92,93]. L'OCT diventa quindi uno strumento fondamentale nello studio di patologie neuro-oftalmologiche caratterizzate da degenerazione delle fibre nervose come la sclerosi multipla; [94,95], la neuropatia glaucomatosa [96], la malattia di Alzheimer [97], la malattia di Parkinson [98], l'atassia di Friedreich [99], le neuropatie ottiche tossiche [73], le neuropatie compressive ed infiltrative [73].

1.5.4 L'OCT nello studio del glioma delle vie ottiche negli affetti da neurofibromatosi di tipo 1

Tra le neuropatie compressive si annoverano forme secondarie a neoformazione del sistema nervoso centrale con coinvolgimento delle vie ottiche, come nel caso di glioma delle vie ottiche negli affetti da neurofibromatosi di tipo 1. L'OCT può dimostrarsi utile nel valutare eventuali segni di sofferenza del nervo ottico, con degenerazione degli assoni delle cellule ganglionari e compressione delle vie ottiche che esitano nell'assottigliamento dello spessore delle fibre nervose retiniche. Poiché gli assoni delle cellule ganglionari non sono rivestiti dalla mielina finché non penetrano nella lamina cribrosa, lo strato delle fibre nervose retiniche rappresenta una struttura ideale (e l'unica a livello del SNC dotata di questa peculiarità) per visualizzare i processi di neuro degenerazione [73].

L'OCT rappresenta una tecnica innovativa che consente lo studio oggettivo dei processi di neurodegenerazione che si svolgono a livello di una struttura eloquente del sistema nervoso centrale quale la retina.

In aggiunta, grazie alla modalità infrarosso (Infrared Reflectance imaging, IR) inclusa negli OCT di ultima generazione (Spectralis® HRA+OCT), durante lo stesso esame è possibile ottenere immagini del fundus oculi all'infrarosso, utili nei soggetti con sospetta diagnosi di neurofibromatosi di tipo 1 per identificare la presenza di chiazze iper-riflettenti NF1- correlate, poiché probabile marker di malattia e di recente si è osservato che possono essere clinicamente ritenute un criterio diagnostico sensibile e aggiuntivo di NF1 (Figura 5) [100,101].

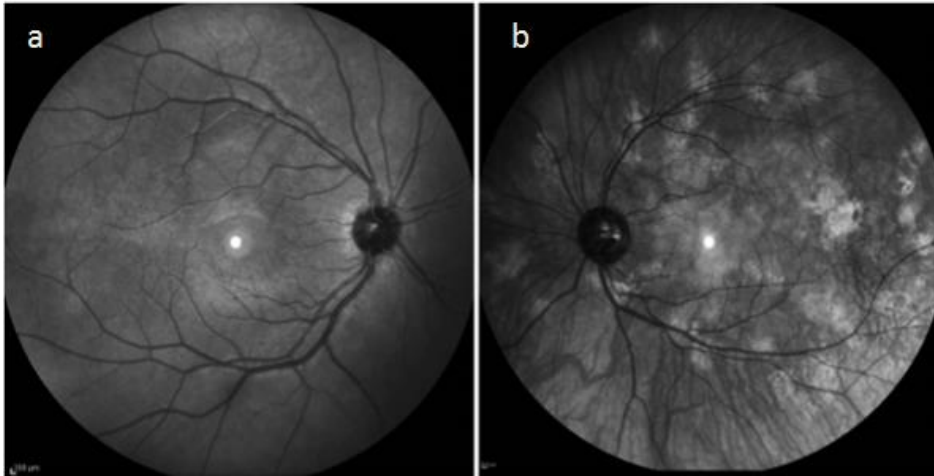


Figura 5. Immagini del fundus all'infrarosso ottenute mediante la modalità infrared dell'OCT Spectralis® HRA+OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany). (a) In un soggetto di 4 anni di sesso maschile con diagnosi di NF1 l'esame non rileva alterazioni in occhio destro; (b) in un soggetto di 5 anni di sesso maschile con diagnosi di NF1 si evidenzia la presenza di chiazze coroideali multiple e diffuse in occhio sinistro [101].

SCOPO DELLO STUDIO

Valutare prospetticamente il contributo dell'analisi dello strato delle fibre nervose retiniche mediante tomografia a coerenza ottica Spectral Domain (SD-OCT) come strumento di screening per la diagnosi di glioma delle vie ottiche in pazienti affetti da NF1 in età pediatrica e di compararlo con quello ottenuto dagli attuali gold-standard diagnostici (misurazione dell'acuità visiva e la valutazione della papilla ottica).

MATERIALI E METODI

3.1 Popolazione di studio

Sono stati inclusi 142 pazienti pediatrici (284 occhi) affetti da neurofibromatosi di tipo 1, afferenti alla Genetica Medica e alla Clinica Oculistica dell'Università degli Studi di Padova tra il Giugno 2013 e il Settembre 2015.

Il consenso informato è stato ottenuto da ciascuno dei rappresentanti legali di ogni paziente pediatrico e dal paziente stesso nei casi in cui fosse in grado di fornire il consenso stesso.

I criteri di inclusione nello studio sono stati:

- pazienti affetti da neurofibromatosi di tipo 1, la cui diagnosi è stata formulata secondo i criteri del “National Institute of Health”; [4]
- età compresa tra 1 e 16 anni;

I criteri di esclusione dallo studio sono stati:

- storia di qualsiasi patologia oftalmologica o neurologica che potesse compromettere la capacità visiva o la funzione o l'aspetto del nervo ottico (ad esempio: ambliopia, cataratta, retinopatia del prematuro, glaucoma);
- risonanza magnetica non eseguita secondo i parametri standard, compresa la mancanza di somministrazione del mezzo di contrasto [43,102].

Ogni paziente incluso in questo studio è stato sottoposto, previa raccolta di un'anamnesi clinica e farmacologica oculare e sistemica, all'esecuzione di una visita oculistica completa ed a tomografia a coerenza ottica per valutare lo spessore dello strato delle fibre nervose retiniche [58].

La visita oculistica consisteva in:

- misurazione dell'acuità visiva;
- valutazione della refrazione in miosi e in cicloplegia dopo la somministrazione di ciclopentolato (Ciclolux 10 mg/ml collirio) ogni 5-10 minuti per 2-3 volte;
- valutazione della presenza di visione stereoscopica mediante test di Lang di tipo II;

- biomicroscopia alla lampada a fessura con eventuale valutazione e documentazione fotografica della presenza di noduli di Lisch;
- tonometria nei soggetti di età maggiore di sei anni;
- esame del fundus oculi in midriasi farmacologica, mediante oftalmoscopia indiretta.

Sulla base dei risultati ottenuti in ogni singolo test (misurazione dell'acuità visiva, osservazione del disco ottico e misurazione dello spessore dello strato delle fibre nervose retiniche peripapillari) i pazienti sono stati divisi in non sospetti e sospetti di essere affetti da glioma delle vie ottiche. Ogni paziente classificato come sospetto in almeno uno dei test eseguiti è stato sottoposto a risonanza magnetica dell'encefalo e delle orbite con e senza mezzo di contrasto.

I pazienti sono stati ulteriormente suddivisi in tre gruppi in base alla localizzazione del glioma delle vie ottiche al momento della diagnosi iniziale. Sono stati pertanto suddivisi in gliomi localizzati a livello pre-chiasmatico (coinvolgimento solo di uno o entrambi i nervi ottici), chiasmatico (coinvolgimento del chiasma ottico e/o il nervo ottico), postchiasmatico (coinvolgimento del chiasma e strutture posteriori compreso l'ipotalamo con o senza coinvolgimento dei nervi ottici) [56].

3.2. Valutazione dell'acuità visiva

In ciascun paziente l'acuità visiva è stata misurata da un oculista di provata esperienza pediatrica. La misurazione dell'acuità visiva è stata eseguita come primo esame, prima della valutazione dello spessore dello strato delle fibre nervose retiniche e della valutazione del disco ottico. Si è testata inizialmente l'acuità visiva binoculare e poi l'acuità visiva monoculare, cominciando dall'occhio destro. Per testare i bambini di età compresa tra i due e i sei anni si è utilizzato il test di Lea Hyvärinen (Figura 6); l'ottotipo di Snellen è stato invece impiegato per i pazienti di età compresa tra i quattro e i sedici anni [103,104,105,106]. I soggetti di età compresa tra i quattro e i sei anni sono stati sottoposti ad entrambi gli esami, cominciando con il test di Lea Hyvärinen, e si è tenuto conto del migliore risultato ottenuto.

Il test di Lea Hyvärinen è stato eseguito in accordo con i protocolli precedentemente pubblicati [105,106]. Se il paziente si dimostrava poco collaborante l'esame veniva interrotto e ripreso dopo una pausa. All'esaminatore era concesso interrompere il test se il soggetto si dimostrava non collaborante nonostante ripetuti tentativi e pause.

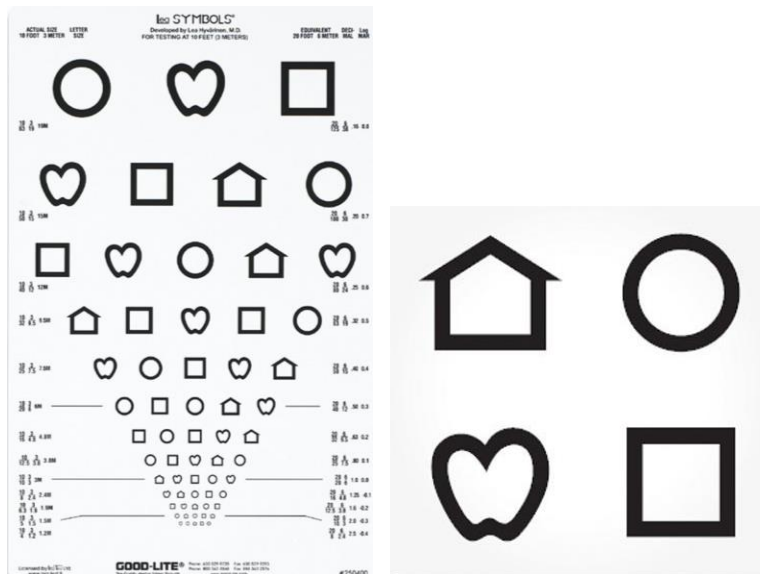


Figura 6. Simboli di Lea Hyvärinen.

La misurazione dell'acuità visiva con ottotipo di Snellen è stata eseguita seguendo le procedure standard [103,104].

Dal momento che la determinazione dell'acuità visiva è un elemento fondamentale nella valutazione clinica, ogni sforzo è stato compiuto al fine di ottenere dei risultati attendibili da questo esame.

L'operatore ha potuto giudicare i risultati dell'esame dell'acuità visiva non informativi per lo studio nei casi in cui i soggetti non fossero stati in grado di portare a termine l'esame in modo affidabile e nei casi di mancata collaborazione. Ciascun caso in cui si è avuto il fallimento della misurazione dell'acuità visiva monocolare dopo una valutazione binoculare attendibile è stato considerato informativo per lo scopo e sospetto per presenza di glioma delle vie ottiche. Il fallimento sia dell'acuità visiva binoculare che dell'acuità visiva monocolare non è stata considerata informativa per lo scopo. Ciascun esame dell'acuità visiva considerato informativo per lo scopo è stato successivamente classificato come

non sospetto o sospetto per glioma, basandosi sui dati di normalità per l'acuità visiva in pazienti pediatriche [107].

3.3 Valutazione del disco ottico

Tutti i pazienti sono stati sottoposti a valutazione del disco ottico mediante oftalmoscopia indiretta in midriasi pupillare. L'esame è stato eseguito da un oftalmologo pediatrico esperto, dopo la misurazione dell'acuità visiva.

Ciascun esame è stato classificato come informativo o non informativo per lo studio, basandosi sull'opinione personale del medico legata alla collaborazione del paziente. Nei pazienti non collaboranti l'esame è stato giudicato non informativo per lo studio. Ciascun esame giudicato informativo è stato successivamente classificato come non sospetto o sospetto per la presenza di glioma delle vie ottiche. Il sospetto si basa sul rilevamento di edema della papilla, pallore papillare, atrofia o asimmetria del disco ottico (giudizio personale del medico che ha eseguito l'esame). Ciascun paziente avente uno o entrambi gli occhi con caratteristiche sospette per glioma delle vie ottiche è stato incluso nel relativo gruppo.

3.4 Valutazione dello spessore dello strato delle fibre nervose retiniche peripapillari mediante tomografia a coerenza ottica

Tutti i soggetti sono stati sottoposti in entrambi gli occhi a tomografia a coerenza ottica di tipo Spectral Domain (SD-OCT) con Spectralis® HR + OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany) per valutare lo spessore dello strato delle fibre nervose retiniche. Lo strumento combina la tecnologia della tomografia a coerenza ottica con un oftalmoscopio confocale a scansione laser che fornisce un'immagine di riferimento del fundus. Mediante un diodo superluminescente, che emette un fascio luminoso alla lunghezza d'onda di 870 nm, permette di eseguire scansioni circolari (3.5 mm di diametro) peripapillari delle fibre nervose, ad una velocità che può raggiungere le 40000 riproduzioni al secondo. Possiede la modalità Automatic Real Time (ART) che, quando attivata, consente all'operatore di ottenere un numero scelto di fotogrammi e di sommarli al fine di ottenere

un'immagine finale di qualità migliore [108]. Il software contiene un database normativo dello spessore delle fibre nervose retiniche in occhi normali di soggetti di sesso e razza diverse e di età compresa tra i 18 e i 78 anni (non usato per questo studio) [81,87]. Lo spessore delle fibre nervose retiniche peripapillari viene calcolato in micron dal software dello strumento, fornendo una media globale (G) ed il valore medio dello spessore di ciascuno dei sei settori: temporale (T), temporale-superiore (TS); temporale inferiore (TI); nasale (N); nasale inferiore (NI) e nasale superiore (NS) (Figura 7). I parametri misurati sono automaticamente confrontati con il database normativo pediatrico e i risultati vengono classificati mediante un'immagine a colori [78,87,109,110,111].

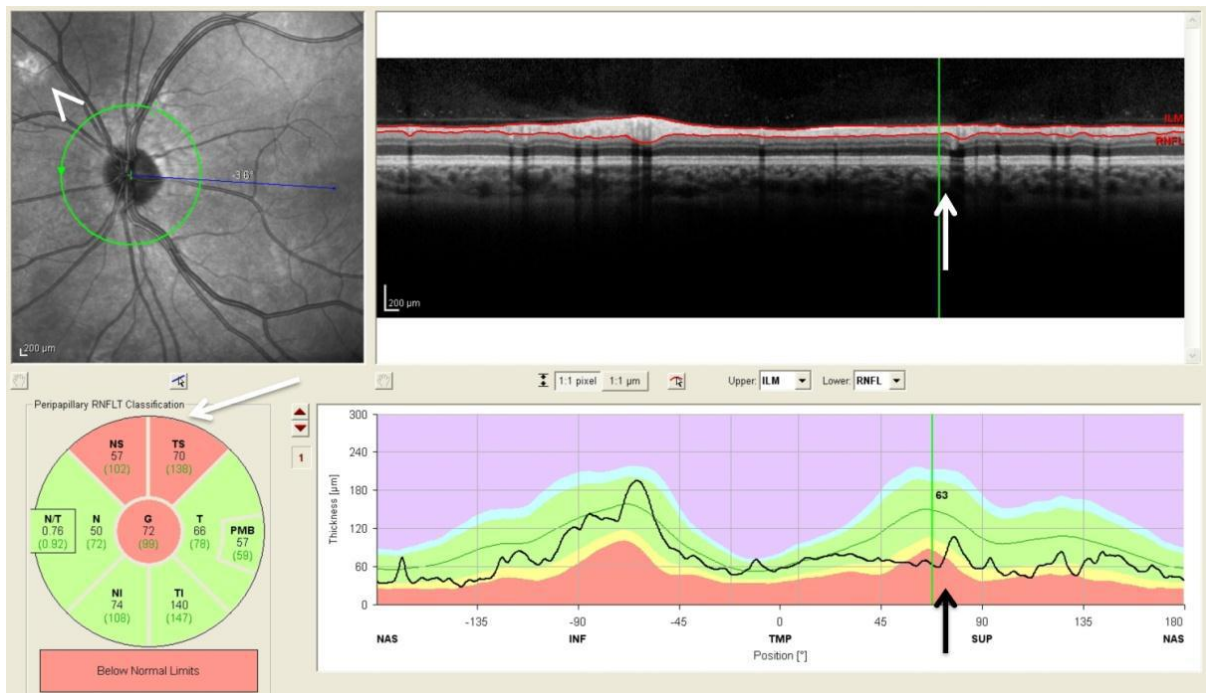


Figura 7. Esempio di report sullo strato delle fibre nervose retiniche peripapillari fornito dallo strumento SD-OCT per la scansione di RNFL. I numeri sotto il nome di ogni settore sono le medie individuali dello spessore di RNFL (µm). I numeri tra parentesi sono la media dello spessore negli adulti nel database normativo Spectralis. L'analisi di RNFL documenta una riduzione di RNFL nei quadranti superiori in occhio sinistro. L'immagine all'infrarosso (in alto a sinistra) documenta la presenza di una singola chiazza iper-riflettente corioideale nei settori nasali superiori. RNFL=Retinal Nerve Fiber Layer [111].

Se la misura dello spessore medio delle fibre nervose è compresa all'interno del 95% dell'intervallo di confidenza di una distribuzione normale ($p > 0.05$), il settore appare di colore verde ed è categorizzato come "all'interno dei range di normalità". Se è compresa tra il 95% e il 99% dell'intervallo di confidenza ($0.01 < p < 0.05$) il settore è colorato di giallo ed è considerato "borderline". Se invece si colloca oltre il 99% dell'intervallo di confidenza ($p < 0.01$) il settore compare di colore rosso ed è considerato "al di sotto dei range di normalità", il che significa che meno dell'1% di tutti i soggetti normali inseriti nel database ha valori così bassi dello spessore delle fibre nervose retiniche e sta ad indicare un'alta probabilità di anormalità (Figura 8, Figura 9) [81,109]. Nel caso di questo studio, la normalità dello spessore delle fibre nervose non è stato calcolato automaticamente da questo software, ma manualmente utilizzando i dati di normalità pediatrici [87].

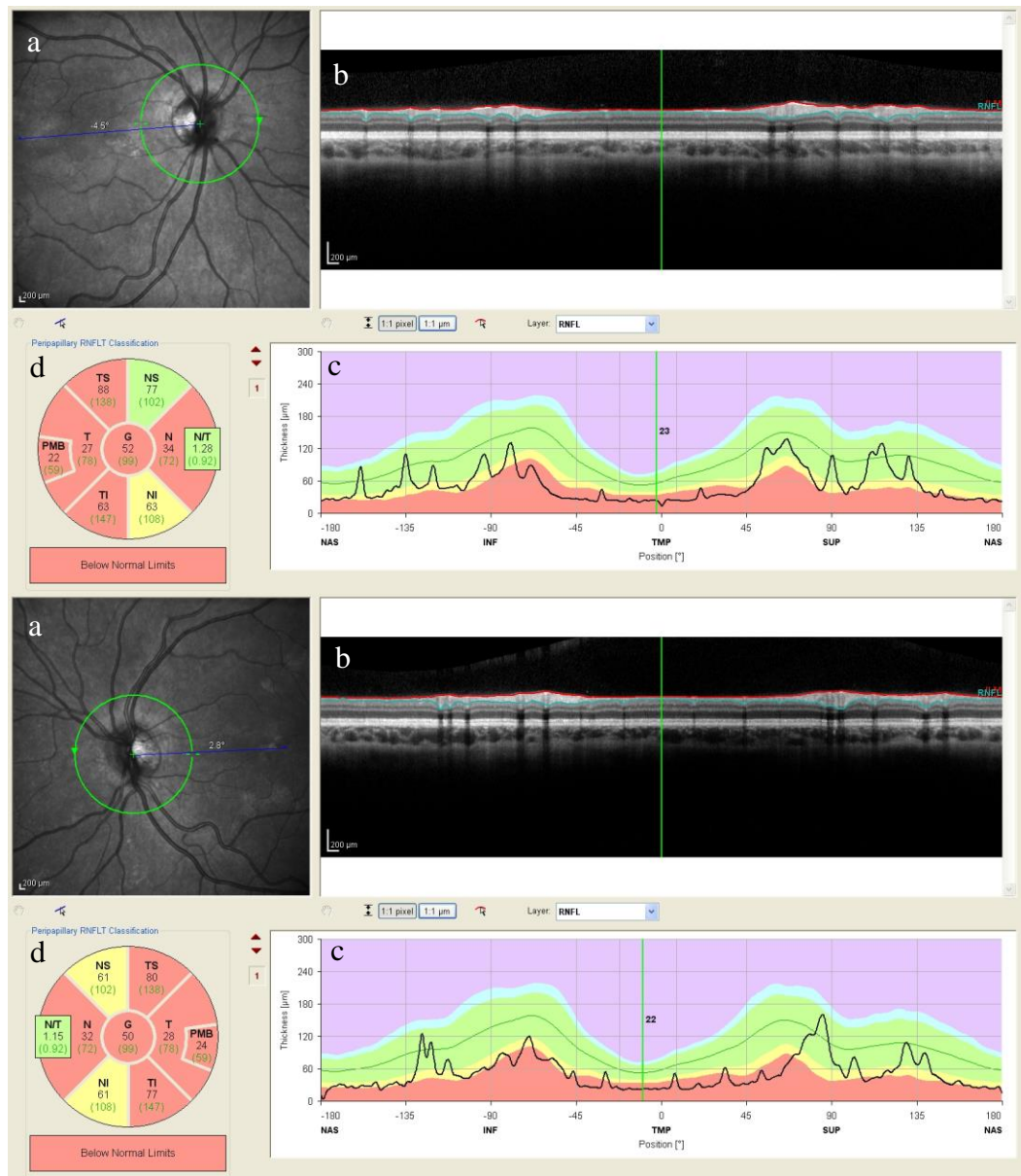


Figure 8. Referto di una bambina di 6 anni affetta da NF1 con glioma ottico-chiasmatico ottenuto con Spectralis HRA+OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany). a) Area circolare peripapillare scansionata, centrata sulla papilla ottica. b) Strati retinici a livello peripapillare. c) Lo spessore dello strato delle fibre nervose retiniche (RNFL) in micron è riportato sull'asse y del grafico e confrontato con il database normativo dell'OCT Spectralis; l'asse x riporta i settori (nasale, inferiore, temporale, superiore) analizzati dalla scansione circolare. d) Il grafico a torta riporta i valori di spessore di RNFL in ogni settore e fornisce un'immagine codificata a colori. La barra colorata al di sotto del grafico a torta indica la classificazione complessiva. Appare di colore rosso se un settore risulta avere uno spessore al di sotto dei range di normalità; gialla se un settore appare "borderline" (e nessuno al di sotto dei range di normalità); verde se tutti i settori risultano all'interno dei range di normalità; RNFL=Retinal Nerve Fiber Layer.

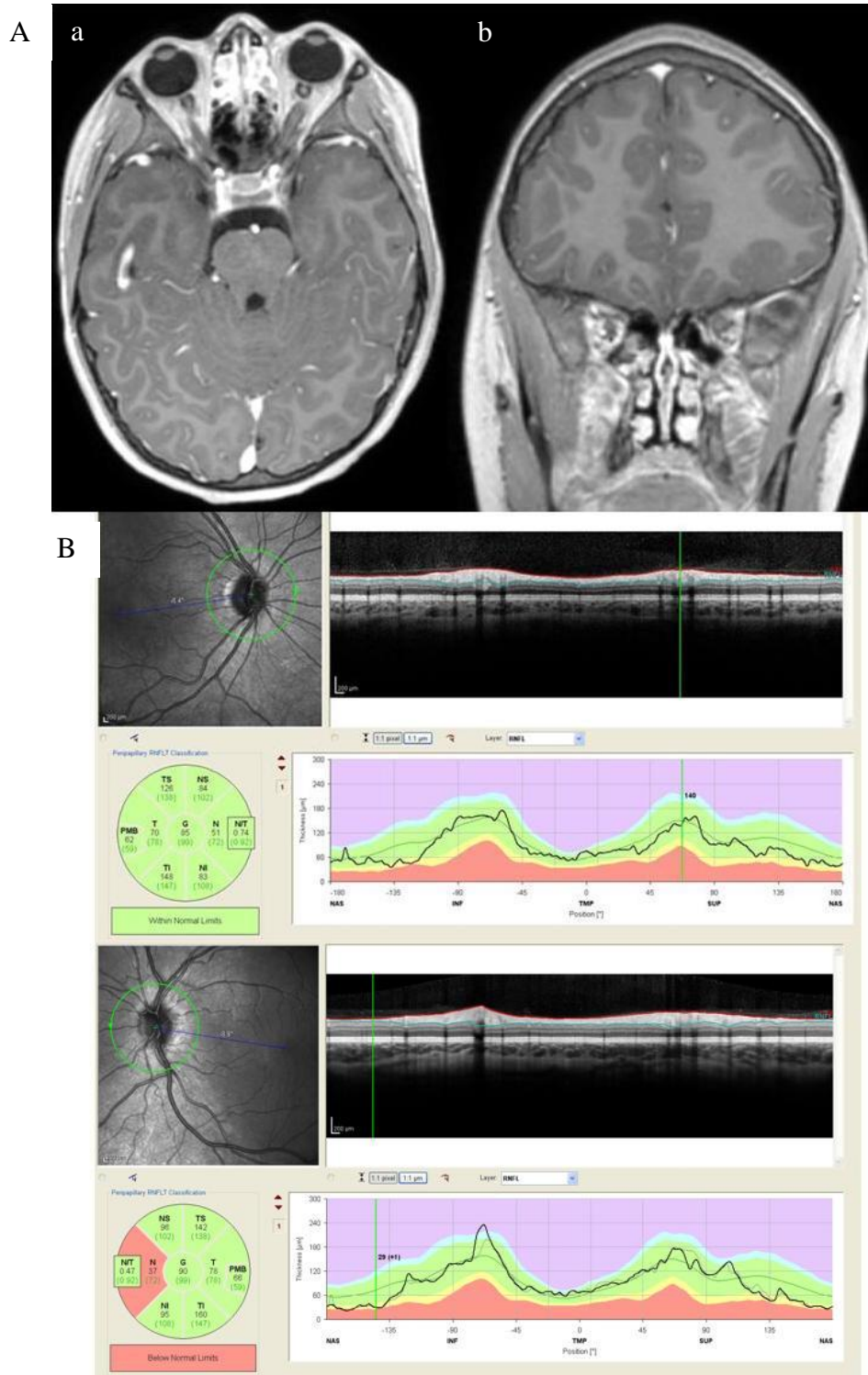


Figura 9. A) Risonanza magnetica orbito-encefalica di una bambina di 7 anni affetta da NF1, sequenza T1 con mezzo di contrasto piano assiale (a) e piano coronale (b): il nervo ottico sinistro appare di spessore aumentato rispetto al controlaterale compatibile con la presenza di glioma; B) Referto ottenuto con Spectralis HRA+OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany). L'analisi dello strato delle fibre nervose retiniche evidenzia una riduzione marcata dello spessore dello strato delle fibre nervose retiniche nel settore nasale dell'occhio sinistro.

Nel nostro studio l'OCT è stato eseguito da un solo operatore. Ciascun bambino è stato sottoposto all'esame in midriasi pupillare, dopo l'esecuzione dell'esame dell'acuità visiva e dell'osservazione del disco ottico mediante oftalmoscopia indiretta, partendo dall'occhio destro. Una mira interna di fissazione è stata usata per entrare l'area indagata sul disco ottico. Nei casi in cui la centratura non fosse risultata adeguata, si è provveduto a spostare manualmente l'area "circle-shaped" al di sopra del disco ottico per ottenere un risultato maggiormente attendibile [108]. Sono state ottenute almeno due scansioni circolari (circle scan size: 3.5 mm) peripapillari ad alta velocità dello strato delle fibre nervose retiniche [58]. È stata utilizzata la modalità ART (16-100 averaged images). Durante la misurazione una barra indicava la qualità dell'immagine e il rapporto segnale/rumore. L'intervallo di qualità variava da 0, cioè immagini di povera qualità, a 40, cioè immagini di eccellente qualità. Le scansioni con qualità inferiore a 25 sono state escluse. Basandosi sulla qualità dell'immagine e sulla correttezza della posizione della scansione attorno al nervo ottico, una singola immagine dello strato delle fibre del nervo ottico è stata scelta per l'analisi. La valutazione dello spessore dello strato delle fibre nervose retiniche è stata definita informativa o non informativa per lo studio sulla base della collaborazione del paziente, la posizione della scansione sul nervo ottico e dei dati acquisiti.

La valutazione dello spessore delle fibre nervose retiniche è stata giudicata non informativa per lo studio nei soggetti incapaci di portare a termine l'esame o totalmente non collaboranti. Il fallimento dell'esame in un solo occhio, dovuto alla perdita di fissazione, con un'esecuzione corretta dell'esame nell'altro occhio, è stata considerata informativa per lo studio e sospetta per glioma delle vie ottiche. Il fallimento dell'esecuzione dell'esame in entrambi gli occhi è stata considerata non informativa per lo scopo.

Ciascuna valutazione dello spessore delle fibre nervose retiniche è stata poi classificata come non sospetta o sospetta per la presenza di glioma. Poiché lo strato delle fibre nervose retiniche peripapillare nei bambini sani di età inferiore ai 15 anni risulta essere di spessore maggiore rispetto a quello degli adulti sani (età compresa tra i 18 e i 78 anni), si sono usati come riferimento i normali intervalli di spessore delle fibre nervose retiniche nei bambini [87].

I valori che si attestano sopra al quinto percentile sono stati considerati normali. Pazienti con uno o entrambi gli occhi con uno spessore delle fibre nervose retiniche inferiore al quinto percentile almeno in una singola area (G; T; TI; TS;

N; NI; NS) e pazienti collaboranti non in grado di sostenere l'esame in un occhio per la perdita di fissazione con regolare svolgimento dell'esame nell'occhio controlaterale sono stati considerati sospetti per la presenza di glioma delle vie ottiche.

3.5 Risonanza magnetica

I pazienti del nostro studio, sono stati sottoposti a risonanza magnetica (MRI) encefalo-orbite con e senza di mezzo di contrasto, solamente se identificati allo screening come a rischio di glioma. La diagnosi di glioma delle vie ottiche si basa sul riscontro di alterazioni di segnale e di morfologia alla MRI. [102,112,113,114]. Tali risultati sono stati ricavati dal referto formale dell'esame e classificati come evidenza/non evidenza di glioma delle vie ottiche in qualsiasi sede.

3.6 Analisi Statistica

La sintesi descrittiva dei parametri oggetto di valutazione è stata eseguita secondo i consueti metodi della statistica descrittiva: frequenza assoluta e relativa per i parametri qualitativi; media, deviazione standard e range per quelli quantitativi. La descrizione dei risultati è stata effettuata a livello di intero campione, di sottogruppo di pazienti sospetti ad almeno uno dei tre test, di sottogruppo di pazienti sottoposti a risonanza magnetica ai quali è stata diagnosticata la presenza di glioma.

La fattibilità dei test è stata espressa mediante la percentuale del numero di pazienti dei quali è stato possibile eseguire il test ed il numero totale dei pazienti reclutati. Tale espressione è stata inoltre effettuata per classe di età del paziente (<5 anni, 5-10 anni e >10 anni). L'associazione tra esecuzione del test ed età del paziente è stata valutata mediante test esatto di Fisher.

Relativamente al gruppo di pazienti sottoposti a MRI è stato calcolato il Valore Predittivo Positivo dei singoli test mediante il rapporto tra il numero di pazienti con test patologico e numero totale di pazienti con diagnosi di glioma.

Il confronto delle caratteristiche demografiche tra pazienti con diversa sede del glioma è stata effettuata mediante test esatto di Fisher per le caratteristiche di tipo qualitativo o modello di Analisi della Varianza ad una via per quelle di tipo quantitativo.

L'associazione tra sede del glioma diagnosticato dalla risonanza magnetica (Pre-chiasmatico vs. Chiasmatico o Post-chiasmatico) e positività di ciascun test è stata effettuata mediante modello di regressione logistica multipla. L'associazione è stata espressa mediante OR aggiustato per età del paziente e suo intervallo di confidenza al 95%.

Tutte le analisi sono state effettuate mediante software di analisi statistica SAS® versione 9.3 su personal computer. Il risultato di tutti i test statistici è stato interpretato come significativo se $P < 0.05$.

RISULTATI

4.1 Popolazione

Le caratteristiche cliniche e demografiche dei centoquarantadue pazienti arruolati, 78 maschi e 64 femmine, età media 7.7 ± 3.9 anni (range 1-16) sono riassunte in Tabella 3.

Dei 142 soggetti, 37 (26.1%) sono stati classificati come sospetti, in almeno uno dei tre test, per la presenza di glioma delle vie ottiche: di questi, 14 sulla base dell'acuità visiva, 21 sulla base della valutazione del disco ottico e 33 sulla base dei dati ottenuti con SD-OCT (Figura 10).

I 37 pazienti sospetti, sono stati sottoposti a risonanza magnetica encefalo-orbite. Di questi, 32 (86.5%) sono risultati affetti da glioma delle vie ottiche: 15 (46.9%) in sede pre-chiasmatica (9 monolaterale e 6 bilaterale), 6 (18.8%) in sede chiasmatica e 11 (34.4%) a livello post-chiasmatico.

Le caratteristiche cliniche e demografiche dei 32 pazienti affetti da glioma delle vie ottiche, 19 maschi e 13 femmine, età media 8.7 ± 4.3 (3-16) anni sono riassunte in Tabella 4.

Tabella 3. Caratteristiche cliniche e demografiche dei soggetti inclusi nello studio

Caratteristiche cliniche e demografiche	Soggetti dello studio, N=142
Età, Media (range)	7.7 (1-16)
Distribuzione, No. (%)	
<1	4 (2.8)
<2	8 (5.6)
<3	16 (11.3)
<4	30 (21.3)
<5	51 (36.0)
<6	65 (45.8)
<7	81 (57.0)
<8	87 (61.3)
<9	96 (67.7)
<10	110 (77.5)
<11	116 (81.7)
<12	120 (84.5)
<13	126 (88.7)
<14	130 (91.6)
<15	134 (94.4)
<16	142 (100)
Sesso, No.%	
Maschile	78 (54.9)
Femminile	64 (45.1)
Razza, No. (%)	
Bianca/Caucasica	139 (97.9)
Nera/Africana	2 (1.4)
Asiatica	1 (0.7)

Tabella 4. Caratteristiche cliniche e demografiche dei soggetti affetti da glioma delle vie ottiche

Caratteristiche cliniche e demografiche	Soggetti affetti da glioma, N=32
Età, Media (range)	8.7 (1-16)
Distribuzione, No (%)	
<1	0 (0.0)
<2	0 (0.0)
<3	3 (9.4)
<4	6 (18.8)
<5	11 (34.4)
<6	13 (40.6)
<7	16 (50.0)
<8	16 (50.0)
<9	18 (56.3)
<10	20 (63.0)
<11	23 (71.9)
<12	25 (78.1)
<13	26 (81.3)
<14	27 (84.4)
<15	29 (90.6)
<16	32 (100)
Sesso, No (%)	
Maschile	19 (59.4)
Femminile	13 (40.6)
Razza, No (%)	
Bianca/Caucasica	31 (96.9)
Nera/Africana	1(3.1)
Sede del glioma, No (%)	
Pre-chiasmatico	15 (46.8)
Chiasmatico	6 (18.8)
Post-chiasmatico	11(34.3)

4.2 Valutazione dell'acuità visiva

La valutazione dell'acuità visiva (visual function assessment, VFA) è stata giudicata informativa per lo scopo in 135 dei 142 (95.1%) pazienti (l'86.3% dei pazienti inferiore ai 5 anni, il 100% di età compresa tra i 5 e i 10 anni e il 100% dei pazienti di età compresa tra i 10 e i 16 anni) ($P= 0.0011$).

Considerando i 37 pazienti sospetti per la presenza di glioma delle vie ottiche 36 (97.3%) sono inclusi nel sottogruppo informativo e 1 paziente (2.7%) nel sottogruppo non informativo. Dei 105 pazienti non sospetti per la presenza di glioma, 99 (94.3%) sono inclusi nel sottogruppo informativo e 6 (5.7%) pazienti sono inclusi nel sottogruppo non informativo. Dei 32 pazienti affetti da glioma delle vie ottiche 31 (96.9%) sono inclusi nel sottogruppo informativo e 1 paziente nel sottogruppo non informativo (3.1%) inferiore ai 5 anni di età.

La fattibilità del Test di Lea Hyvärinen e/o di Snellen dei pazienti inclusi, per i singoli gruppi di età è riportato in Tabella 5 e nel grafico in Figura 11.

La valutazione dell'acuità visiva è stata giudicata come clinicamente sospetta di glioma delle vie ottiche (in almeno un occhio) in 14 su 135 (10.4%) in base ai normali intervalli di acuità visiva per età del bambino [107]. Di questi 14 pazienti, 1 è risultato sospetto solo allo studio dell'acuità visiva ed 1 non era affetto. Di conseguenza, 13 pazienti risultati sospetti all'esame dell'acuità visiva sono poi risultati affetti da glioma (41.9%) mentre 18 pazienti affetti da glioma non sono stati identificati come sospetti da questa metodica (58.1%) (Figura 10, Tabella 6, Figura 12).

Il valore predittivo positivo della valutazione dell'acuità visiva risulta pertanto del 92.9% (Figura 13).

Complessivamente l'esame è stato ritenuto attendibile in 135 dei 142 (95.1%) pazienti NF1, e 31 dei 32 pazienti affetti da glioma delle vie ottiche (96.9%).

4.3 Valutazione del disco ottico

La valutazione del disco ottico (optic disc evaluation, ODE) mediante oftalmoscopia indiretta in midriasi pupillare è stata giudicata clinicamente informativa in 142 (100%) pazienti inclusi nello studio (di età compresa tra i 1 e 16 anni) (P= non eseguibile).

La fattibilità dell'osservazione del disco ottico dei pazienti inclusi, per gruppi di età è riportato in Tabella 5 e nel grafico in Figura 11.

L'aspetto del disco ottico è stato giudicato clinicamente sospetto di glioma delle vie ottiche (almeno in un occhio) in 21 di 142 (14.8%) pazienti dello studio, di cui 19 (59.4%) pazienti sono risultati affetti da glioma. (Figura 10 e Figura 12)

Dei 21 pazienti sospetti, 3 sono risultati sospetti solo allo studio del disco ottico di cui uno non era affetto da glioma (Tabella 6) .

Il valore predittivo positivo dell'osservazione del disco ottico nell'individuare la presenza di glioma delle vie ottiche è 90.5 % (Figura 13).

4.4 Valutazione dello spessore dello strato delle fibre nervose retiniche peripapillari mediante tomografia a coerenza ottica

L'analisi con tomografia a coerenza ottica (SD-OCT) è stata giudicata informativa per lo scopo in 130 dei 142 (91.5%) pazienti (il 78.4% dei pazienti inferiore ai 5 anni, il 98.3% di età compresa tra i 5 e i 10 anni e il 100% dei pazienti di età compresa tra i 10 e i 16 anni) (P<0.001).

Considerando i 37 pazienti sospetti per la presenza di glioma delle vie ottiche 35 (94.6%) sono inclusi nel sottogruppo informativo e 2 pazienti (5.4%) nel sottogruppo non informativo. Dei 105 pazienti non sospetti per la presenza di glioma, 95 (90.4%) pazienti sono inclusi nel sottogruppo informativo e 10 (9.5%) pazienti sono inclusi nel sottogruppo non informativo.

Il successo dell'analisi dello strato delle fibre nervose retiniche SD-OCT per i singoli gruppi di età è riportato in Tabella 5 e nel grafico in Figura 11.

La misurazione dello spessore dello strato delle fibre nervose retiniche è stato giudicato clinicamente sospetto (almeno in un occhio) in 33 di 130 (25.4%) pazienti. Di questi 33 pazienti risultati sospetti 4 non sono poi risultati affetti da glioma (spessore ridotto in una singola area di analisi dello strato delle fibre

nervose retiniche in entrambi gli occhi) (Figura 10). Undici pazienti affetti da glioma sono stati identificati come sospetti solo all'OCT (34.4%) (Tabella 6). Di conseguenza 29 pazienti (96.7%) sospetti risultano affetti da glioma (Figura 12).

Il valore predittivo positivo nel rilevare il glioma delle vie ottiche tramite la valutazione dello spessore delle fibre nervose retiniche con la tomografia a coerenza ottiche è di 87.9% (Figura 13).

Complessivamente l'esame è stato ritenuto attendibile in 130 dei 142 (91.5%) pazienti NF1, e 30 dei 32 (97.6%) pazienti affetti da glioma delle vie ottiche.

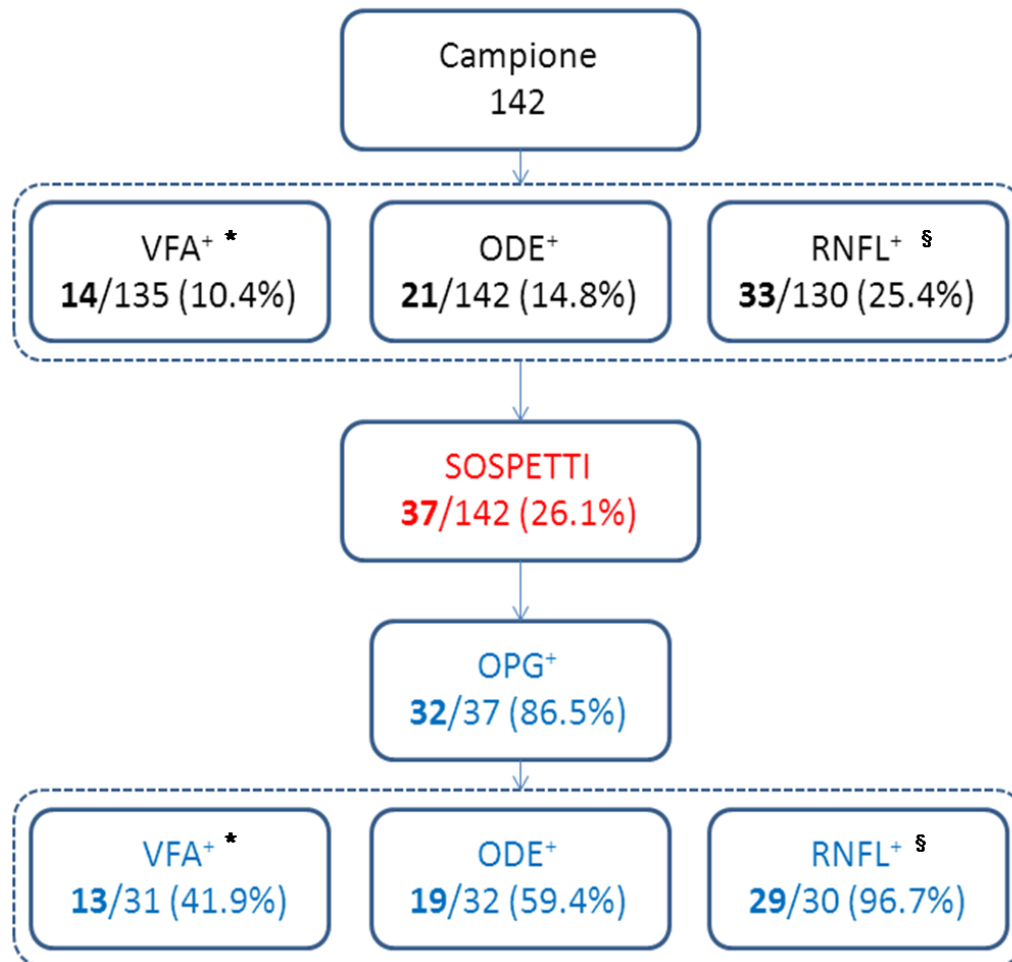


Figura 10. Schema riassuntivo dei pazienti inclusi nello studio. *) VFA non è stata eseguita per tutti i pazienti;§) RNFL non è stato eseguito per tutti i pazienti. VFA=visual function assessment; ODE=optic disc evaluation; RNFL=Retinal Nerve Fiber Layer; OPG= optic pathway glioma; + Parametro patologico; OPG+=presenza di glioma delle vie ottiche.

Tabella 5. Fattibilità di VFA, RNFL e ODE per età.

Età	No. di soggetti /Totale No.(%)		
	VFA	ODE	RNFL
1	1/4 (25.0)	4/4 (100)	2/4 (50)
2	1/4 (25.0)	4/4 (100)	1/4 (25.0)
3	7/8 (87.5)	8/8(100)	7/8 (87.5)
4	14/14 (100)	14/14 (100)	11/14 (78.5)
5	21/21 (100)	21/21 (100)	19/21 (90.5)
6	14/14 (100)	14/14 (100)	13/14 (92.9)
7	16/16 (100)	16/16 (100)	16/16 (100)
8	6/6 (100)	6/6 (100)	6/6 (100)
9	9/9 (100)	9/9 (100)	9/9 (100)
10	14/14 (100)	14/14 (100)	14/14 (100)
11	6/6 (100)	6/6 (100)	6/6 (100)
12	4/4 (100)	4/4 (100)	4/4 (100)
13	6/6 (100)	6/6 (100)	6/6 (100)
14	4/4 (100)	4/4 (100)	4/4 (100)
15	4/4 (100)	4/4 (100)	4/4 (100)
16	8/8 (100)	8/8 (100)	8/8 (100)

VFA: visual function assessment; RNFL: retinal nerve fibre layer; ODE: optic disc evaluation.

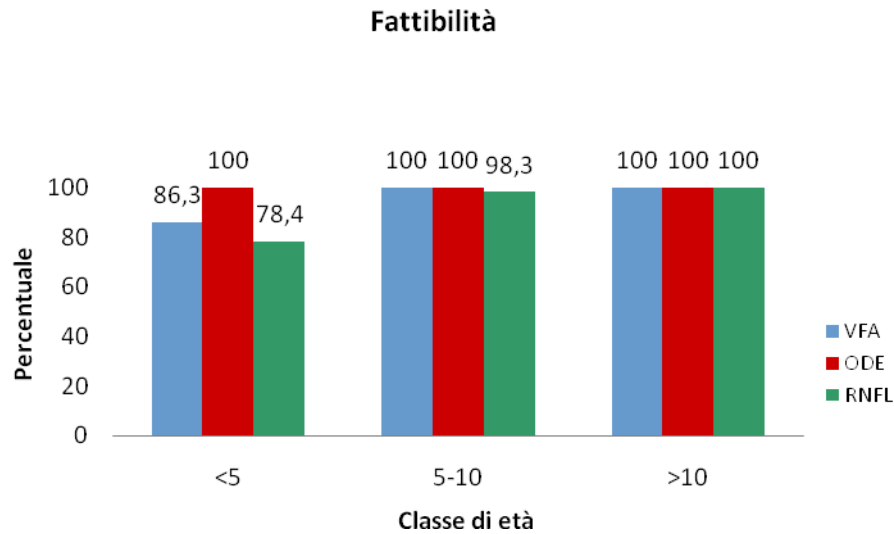


Figure 11. Fattibilità dei test di misurazione dell'acuità visiva, valutazione della papilla e analisi dello spessore dello strato delle fibre nervose retiniche peripapillari divisa per classe di età. VFA=visual function assessment; ODE=optic disc evaluation; RNFL=Retinal Nerve Fiber Layer.

Tabella 6. Positività dei parametri di screening per risultato della risonanza magnetica.

VFA	ODE	RNFL	Sospetti		Affetti	
			N	%	N	%
n.e.	+	n.e.	1	2.7	1	3.1
-	-	+	13	35.1	11	34.4
-	+	-	2	5.4	1	3.1
-	+	+	7	18.9	6	18.8
+	-	n.e	1	2.7	1	3.1
+	-	+	2	5.4	1	3.1
+	+	+	11	29.7	11	34.4
Totale			37	100.0	32	100.0

- Parametro normale; + Parametro patologico; n.e.:valutazione non eseguita; VFA=visual function assessment; ODE=optic disc evaluation; RNFL=Retinal Nerve Fiber Layer.

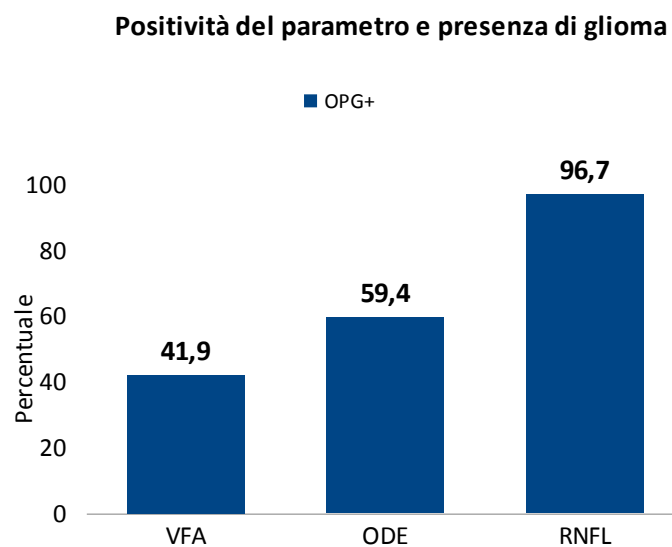


Figura 12. Positività dei parametri di screening e presenza di glioma. VFA=visual function assessment; ODE=optic disc evaluation; RNFL=Retinal Nerve Fiber Layer. OPG+=presenza di glioma delle vie ottiche.

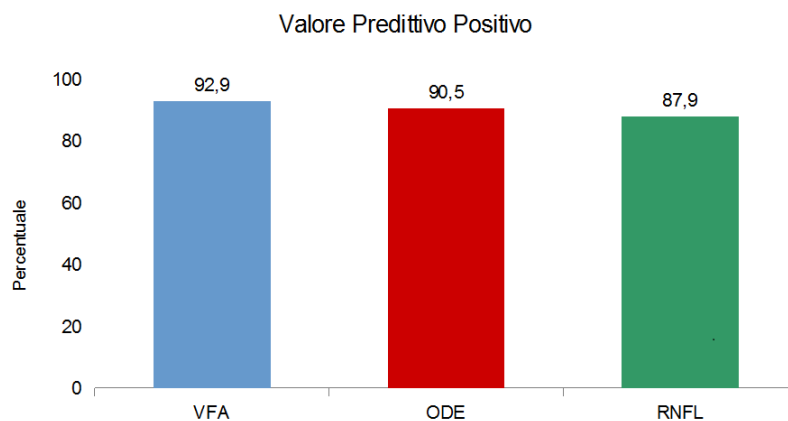


Figura 13. Valore predittivo positivo degli esami eseguiti. VFA=visual function assessment; ODE=optic disc evaluation; RNFL=Retinal Nerve Fiber Layer.

4.5 Sede del glioma delle vie ottiche e i parametri di screening

Lo spessore dello strato delle fibre nervose retiniche peripapillari, risulta ridotto nel 92.3% dei casi con glioma pre-chiasmatico e nel 100% dei casi con glioma a livello chiasmatico e post-chiasmatico. Solamente nel 21.4 % e il 46.7 % dei casi di gliomi pre-chiasmatici si evidenzia un'alterazione dell'acuità visiva e dell'aspetto della papilla rispettivamente. A livello del chiasma si osserva un'alterazione della funzionalità visiva del 66.7% e della papilla dell'83.3% e del 54.5% e 63.6% a livello post-chiasmatico rispettivamente (Figura 14). Inoltre sembra che L'OCT si comporti in modo omogeneo nei tre gruppi e non risente della localizzazione. Non c'è correlazione tra sede del glioma ed età ($P=0.7365$) e sede del glioma e sesso ($P= 0.2595$)(Tabella 7).

Solamente l'acuità visiva patologica è associata alla presenza di eventuale glioma in sede Chiasmatica o Post chiasmatica ($OR=0.19$, $P=0.0413$) (Tabella 8).

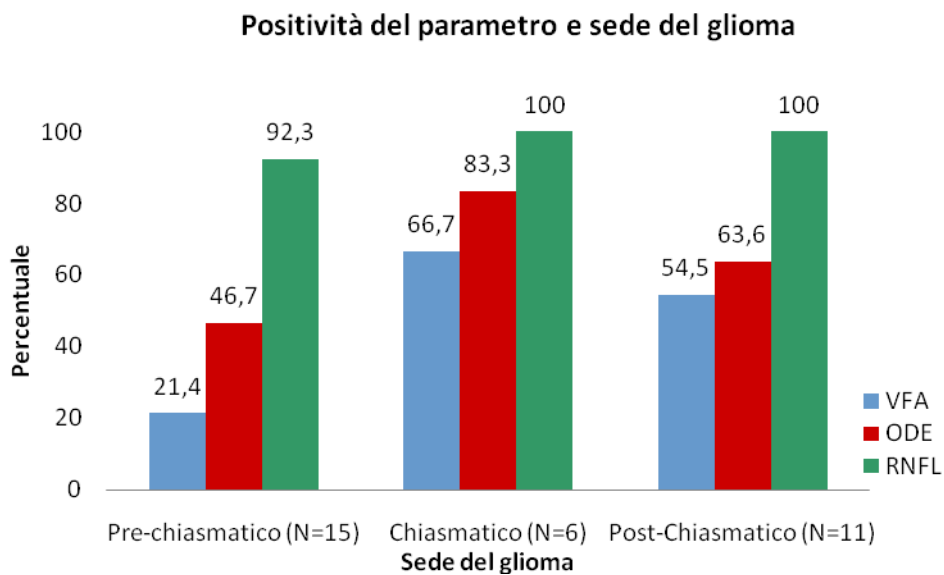


Figura 14. Positività dei parametri di screening e sede del glioma. VFA=visual function assessment; ODE=optic disc evaluation; RNFL=Retinal Nerve Fiber Layer.

Tabella 7. Caratteristiche demografiche e numero e percentuale di pazienti con parametro patologico e sede del glioma.

	Sede del glioma			Totale (N=32)
	Pre-Chiasmatico N=15	Chiasmatico N=6	Post-chiasmatico N=11	
Età°, media (range)	8.1 (3-16)	9.2 (3-16)	9.4 (5-15)	8.7 (3-16)
Sesso [§] , M/F	9/6	2/4	8/3	19/13
VFA ⁺ , n (%)	3 (21.4*)	4 (66.7)	6 (54.6)	13 (41.9*)
ODE ⁺ , n (%)	7 (46.7)	5 (83.3)	7 (63.6)	19(59.4)
RNFL ⁺ , n (%)	12 (92.3§)	6 (100.0)	11 (100.0)	29 (96.7§)

°) Confronto tra età media dei tre gruppi di pazienti: ANOVA, P=0.7365

§) Confronto tra sesso dei tre gruppi di pazienti: Test esatto di Fisher, P=0.2595

*) Per un paziente VFA non è stata eseguita

§) Per due pazienti RNFL non è stato eseguito

VFA=visual function assessment; ODE=optic disc evaluation; RNFL=Retinal Nerve Fiber Layer; + Parametro patologico

Tabella 8. Numero e percentuale di pazienti con parametro patologico e sede del glioma in base a MRI (Pre-chiasmatico vs. Chiasmatico e Post-chiasmatico)

Parametro	Pre-chiasmatico (N=15)	Chiasmatico + Post-chiasmatico (N=17)	Totale (N=32)	OR ^a (95% Wald CL)	P-value
VFA	3 (21.4% ^b)	10 (58.8%)	13 (41.9%)	0.19 (0.04-0.94)	0.0413
ODE	7 (46.7%)	12 (70.6%)	19 (59.4%)	0.36 (0.08-1.56)	0.1742
RNFL	12 (92.3% ^c)	17 (100.0%)	29 (96.7%)	n.e.	0.9562

Pre-chiasmatico =coinvolgimento solo di uno o entrambi i nervi ottici; Chiasmatico =coinvolgimento del chiasma ottico e/o il nervo ottico; Post-chiasmatico = coinvolgimento del chiasma e strutture posteriori compreso l'ipotalamo con o senza coinvolgimento dei nervi ottici; MRI= risonanza magnetica; VFA=visual function assessment; ODE=optic disc evaluation; RNFL=Retinal Nerve Fiber Layer.

^a) L'associazione tra positività del parametro e coinvolgimento del Nervo Ottico è stato testato mediante modello di regressione logistica multipla con aggiustamento per età del paziente.

^b) VFA non eseguita in un paziente.

^c) OCT non eseguito in due pazienti.

MRI:risonanza magnetica

n.e. = non stimabile per carenza di dati.

DISCUSSIONE

Il glioma delle vie ottiche, nei pazienti affetti da NF1, presenta caratteristiche di crescita e sintomi molto variabili. Nonostante siano istologicamente tumori benigni, il rischio di un deficit di vista impone uno stretto monitoraggio dei pazienti. Il ritardo della diagnosi del glioma può comportare una riduzione irreversibile dell'acuità visiva e una possibile riduzione dell'efficacia del trattamento [115].

Attualmente non vi è un consenso su quale sia la metodica migliore per identificare i pazienti affetti da glioma e per il follow-up degli stessi.

Nel 65% dei casi viene diagnosticato prima dei 6 anni di età, ma dati di letteratura evidenziano che l'insorgenza è molto variabile [18,51,58,116]. I pazienti, al momento della diagnosi, possono presentare segni o sintomi oftalmologici o spesso essere asintomatici [52,53].

Il gold standard per la diagnosi ed il follow-up dei pazienti affetti da glioma delle vie ottiche è la risonanza magnetica encefalo/orbite. La MRI, secondo le linee guida attualmente accettate, è riservata ai pazienti in cui sono evidenziate alterazioni alla valutazione oftalmologica. Le metodiche di screening standard sono la misurazione dell'acuità visiva e la valutazione del disco ottico.

Il riscontro di un deficit dell'acuità visiva è considerato molto attendibile per porre il sospetto di glioma delle vie ottiche e per questo, ripetute valutazioni dell'acuità visiva, sono considerate il modo migliore per monitorare questi pazienti [18]. La fattibilità del test è fortemente influenzata dalla collaborazione del paziente. Spesso bambini della stessa età, in particolare quelli affetti da NF1, collaborano in maniera differente non permettendo di concludere la valutazione. Circa un terzo dei soggetti con NF1 non è stato in grado di completare i test dell'acuità visiva, la maggior parte dei quali con un'età inferiore ai 5 anni [117,118]. Questi bambini, infatti, possono essere affetti da ritardo di sviluppo (50-70%), deficit di attenzione e disordine di iperattività (ADHD) (30-50%) [27,28].

Nel 2007, Listernick et al. pubblicarono le raccomandazioni dell'Evidence-Based Medicine per la diagnosi e la gestione dei bambini affetti da NF1 e da glioma delle vie ottiche. Gli autori suggerirono di sottoporre annualmente a misurazione dell'acuità visiva, valutazione del campo visivo e ai test della visione dei colori tutti i pazienti affetti da NF1 di età inferiore agli 8 anni. La visita dovrebbe

comprendere inoltre l'osservazione della papilla, delle palpebre e dell'iride, la valutazione della motilità oculare e del fondo oculare. Questi autori asserirono inoltre che la riduzione dell'acuità visiva dovrebbe essere considerata come l'indicatore più affidabile della presenza del glioma delle vie ottiche, e che misure seriali dell'acuità visiva costituirebbero il miglior modo di seguire i pazienti affetti [18].

Caen et al., considerando che il glioma può svilupparsi anche prima dei sei anni di età e che l'attendibilità dei risultati ottenuti in questi bambini è molto variabile, consiglia di eseguire la valutazione ogni sei mesi almeno fino ai 6 anni e successivamente annualmente fino alla maggiore età [119].

Nei bambini con NF1 sono raccomandati anche altri esami funzionali, principalmente i test per valutare la capacità di percepire i colori e la perimetria automatica [18.]

La discromatopsia spesso accompagna o segue il deficit di acuità visiva. In questo scenario, la perdita dell'acuità visiva senza perdita di visione del colore suggerirebbe errori refrattivi, ambliopia, un disordine funzionale o la mancanza di cooperazione. Si deduce che questo test dovrebbe essere eseguito contemporaneamente alla valutazione dell'acuità visiva standard [18]. Il limite è rappresentato dal fatto che i test di misurazione dell'acuità visiva e quelli di visione del colore dipendono dalla collaborazione del paziente.

Molti studi hanno suggerito che la campimetria è affidabile nei bambini, anche per la diagnosi e il follow-up del glioma delle vie ottiche [120,121]. Non bisogna dimenticare però, che la maggior parte dei bambini presenta difficoltà con la monotonia e la lunghezza del test, portando ad un alto numero di errori di fissazione e falsi positivi. La perimetria cinetica è di più facile esecuzione, quindi più adatta a bambini piccoli e meno collaboranti, ma l'esame si dimostra ancora scarsamente ripetibile in questo gruppo d'età, ed i risultati sono difficilmente quantificabili [57].

L'osservazione del disco ottico, benché rappresenti una tecnica oggettiva e poco influenzata dalla collaborazione del paziente, è operatore dipendente ed in grado di individuare solo soggetti con glioma in fase avanzata. Alcuni gruppi hanno suggerito di utilizzare i potenziali evocati visivi (VEP) per identificare i soggetti affetti da glioma delle vie ottiche, riportando una sensibilità compresa tra il 67% e il 93% e una specificità compresa tra il 60% e l'87% [122,123,124]. L'esecuzione dei VEP necessita la collaborazione di personale dedicato non sempre disponibile

in tutti i centri. Inoltre può essere difficile interpretare piccoli cambiamenti di ampiezza dei potenziali rendendo meno attendibile questa metodica nel follow-up [122,123].

Chang et al. hanno recentemente valutato se l'OCT possa essere uno strumento valido per identificare anomalie dello strato delle fibre nervose retiniche peripapillari in pazienti pediatriche affette da neurofibromatosi di tipo 1 [58]. Questi autori hanno osservato che soggetti con glioma delle vie ottiche hanno spessore dello strato delle fibre nervose retiniche più sottili rispetto ai controlli, mentre soggetti con NF1 senza glioma noto in anamnesi avevano uno spessore dello strato delle fibre nervose retiniche equivalente ai soggetti di controllo sani. Questi autori hanno riportato che in un paziente con funzione visiva normale, ma affetto da glioma delle vie ottiche, l'OCT risultava anormale. Ciò ha sollevato dei dubbi sulla sensibilità e la specificità dello studio della funzione visiva rapportate a quelle della valutazione dello strato delle fibre nervose retiniche [58]. Nel nostro studio 17 pazienti con acuità visiva normale avevano uno spessore dello strato delle fibre nervose ridotto al momento della diagnosi.

In un precedente studio, abbiamo per primi dimostrato che l'analisi dello strato delle fibre nervose peripapillari mediante OCT ha una sensibilità, una specificità, un valore predittivo positivo e un valore predittivo negativo superiore rispetto alla valutazione dell'acuità visiva e della valutazione del disco ottico [111].

Nel nostro gruppo di pazienti, utilizzando il Test di Lea Hyvärinen in bambini di età inferiore ai 6 anni ed il test di Snellen in pazienti di età maggiore di 4 anni, sono state ottenute percentuali di successo pari a 95.1% (minore per i bambini di età inferiore ai 5 anni pari a 86.3%) per la valutazione della funzionalità visiva e 100% per la valutazione del disco ottico rispetto a quelle precedentemente riportate (84% e 95% e rispettivamente). Come già sottolineato, questi esami, oltre ad avere una variabilità legata all'operatore necessitano la collaborazione del paziente. Riguardo la fattibilità dell'esame SD-OCT nel nostro studio è sovrapponibile a quella precedentemente riportata (precedentemente dal nostro gruppo) (91.5% vs 88%) [111].

L'uso dell'OCT potrebbe essere teoricamente limitato dalla collaborazione del soggetto ma, dal momento che richiede solamente alcuni secondi di cooperazione, questa tecnologia risulta di più facile utilizzo rispetto alla misurazione dell'acuità visiva o ai test perimetrici [58,125]. Inoltre, l'OCT è oggi parte integrante della valutazione clinica oftalmologica, quindi disponibile nella maggioranza dei centri,

e relativamente facile da eseguire nei bambini ponendo rischi minimi rispetto a quelli associati all'esecuzione di neuroimaging o dei PEV [58,125].

Sebbene la collaborazione nei bambini di età inferiore ai 6 anni sia variabile, una valutazione tomografica affidabile dello strato delle fibre nervose retiniche è stato ottenuta anche in soggetti di 3 anni di età, sia nel nostro studio che negli studi di riferimento. Nel nostro studio i pazienti che avevano 3 anni di età l'OCT è stato eseguito a 7 su 8 pazienti [58,125].

Abbiamo rilevato che il 96.7% dei pazienti affetti esaminati in questo lavoro aveva un spessore dello strato delle fibre nervose retiniche peripapillari patologico rispetto al 41.9% dell'acuità visiva e il 59.4% dell'aspetto papillare. Inoltre, la valutazione dello spessore delle fibre nervose retiniche mediante SD-OCT, dell'acuità visiva e dell'esame della papilla ha ottenuto un valore predittivo positivo del 87.9%, 92,9% e 90,5% rispettivamente. Pertanto il valore predittivo positivo per quanto riguarda la metodica dell' OCT è sovrapponibile a quello già riportato in precedenza (83%.) [111]. Il 58.1% dei pazienti sospetti di questo studio con acuità visiva normale e il 40.6% con papilla normale risultavano affetti da glioma, rispetto al 3.3% con spessore delle fibre nervose retiniche peripapillari normale. Infine l'SD-OCT ci ha permesso di diagnosticare il 34.4 % in più di gliomi rispetto alle metodiche standard.

Topku-Yilmaz et al, hanno osservato che lo spessore delle fibre nervose retiniche peripapillari e il volume della macula sono ridotti nei pazienti affetti da glioma. Lo spessore delle fibre nervose retiniche peripapillari è ridotto sia in quelli con acuità visiva normale sia in quelli con acuità visiva patologica, mentre la riduzione del volume maculare, risulta ridotto significativamente solo nei pazienti con alterata acuità visiva. Gli autori suggeriscono che la riduzione dello spessore dello strato delle fibre nervose retiniche peripapillari può essere un marker utile per l'identificazione di gliomi in questo gruppo di pazienti [126].

Uno studio condotto su pazienti con gliomi delle vie ottiche , ha dimostrato che lo spessore del complesso delle cellule ganglionari e lo strato plessiforme interno (GCL-IPL) e lo spessore delle fibre nervose retiniche in sede maculare era ridotto in pazienti con acuità visiva ridotta, ma lo spessore GCL-IPL era in grado di discriminare i pazienti con acuità visiva ridotta da quelli con acuità visiva normale [127].

Un limite di questo studio potrebbe essere il non aver considerato la valutazione di RNFL in sede maculare. Uno specifico studio su tale aspetto è in fase di

svolgimento.

Dal punto di vista prognostico è importante considerare la sede del glioma. Dai dati di letteratura i gliomi anteriori hanno una prognosi più favorevole. I pazienti affetti da tumori che coinvolgono i tratti ottici e l'ipotalamo hanno una riduzione della funzione visiva nel 62% dei casi, mentre se il tumore coinvolge i nervi ottici o il chiasma la riduzione è del 32% [56,63]

Nel nostro studio si evidenzia la superiorità dell'esame SD-OCT rispetto alle altre metodiche nella diagnosi dei gliomi delle vie ottiche soprattutto in caso di tumori in sede pre-chiasmatica. Il 92.3%, è stato identificato mediante tecnica SD-OCT rispetto al 21.4% e 46.7% per l'acuità visiva e la valutazione della papilla rispettivamente.

CONCLUSIONI

Il nostro studio ha evidenziato che l'analisi dello strato delle fibre nervose retiniche tramite tomografia a coerenza ottica sembra essere superiore rispetto alla misurazione dell'acuità visiva e all'osservazione del disco ottico nella diagnosi clinica di glioma delle vie ottiche nei bambini affetti da neurofibromatosi di tipo 1. I nostri risultati dimostrano che i pazienti con glioma delle vie ottiche possono avere una riduzione dello spessore delle fibre nervose retiniche peripapillari ben documentabile tramite SD-OCT prima che questi manifestino un'alterazione dell'acuità visiva. Questa metodica è potenzialmente applicabile anche nel follow-up dei pazienti, permettendo teoricamente di identificare una progressione di malattia (riduzione progressiva di RNFL) prima che questo sia clinicamente rilevante (riduzione dell'acuità visiva). In particolare, nella popolazione pediatrica, l'OCT potrebbe ridurre le variabili dipendenti dalla collaborazione del paziente. Partendo da queste osservazioni, è auspicabile l'esecuzione di studi longitudinali per confermare l'attendibilità e la sensibilità dell'OCT nella diagnosi e nel follow-up di questi pazienti. Studi prospettici permetteranno inoltre di valutare la relazione temporale tra il riscontro della riduzione dello spessore delle fibre nervose retiniche peripapillari e l'eventuale insorgenza di deficit funzionali.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Neri G, Genuardi M. *Genetica umana e medica*. II Ed Elsevier Masson, Milano, 2010.
- [2] Ruggieri M, Tenconi R. *Le neurofibromatosi*. Associazione Linfa, Lottiano insieme per la Neurofibromatosi. I Ed, Padova, 2001.
- [3] Ruggieri M, Pavone P, Polizzi A, Di Pietro M, Scuderi A, Gabriele A, Spalice A, Iannetti P. Ophthalmological manifestations in segmental neurofibromatosis type 1. *Br J Ophthalmol* 2004;88:1429-33.
- [4] National Institute of Health Consensus Development Conference Statement. Neurofibromatosis. *Arch Neurol* 1988;45:575-578.
- [5] Williams, VC, Lucas J, Babcock MA, Gutmann DH, Korf B, Maria BL. Neurofibromatosis type 1 revisited. *Pediatrics* 2009;123:124-33
- [6] Pasmant E, Vidaud M, Vidaud D, Wolkenstein P. Neurofibromatosis type 1: from genotype to phenotype. *J Med Genet* 2012;49:483-9.
- [7] Ruggieri M, Huson SM. The Neurofibromatosis. An overview. *Ital J Neurol Sci* 1999;20;89-108.
- [8] Riccardi VM. *Neurofibromatosis: Phenotype, natural history, and pathogenesis*. 2nd ed, Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1992.
- [9] Gutmann DH, Collins FS. Neurofibromatosis 1. In: *The metabolic and molecular bases of inherited disease*, Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. Eds McGraw-Hill, New York 2001.
- [10] Carey JC, Baty BJ, Johnson JP, Morrison T, Skolnick M, Kivlin J. The genetic aspects of Neurofibromatosis. *Ann N y Acad Sci* 1986;486;45-56.

- [11] Elefteriou F, Kolanczyk M, Schindeler A, Viskochil DH, Hock JM, Schorry EK, Crawford AH, Friedman JM, Little D, Peltonen J, Carey JC, Feldman D, Yu X, Armstrong L, Birch P, Kendler DL, Mundlos S, Yang FC, Agiostratidou G, Hunter-Schaedle K, Stevenson DA. Skeletal abnormalities in neurofibromatosis type 1: approaches to therapeutic options. *Am J Med Genet A*. 2009;149:2327-38.
- [12] Morcaldi G, Clementi M, Lama G, Gabrielli O, Vanelli S, Viridis R, Vivarelli R, Boero S, Bonioli E. Evaluation of tibial osteopathy occurrence in neurofibromatosis type 1 Italian patients: *Am J Med Genet A* 2013;161:927-34.
- [13] Seizinger BR, Rouleau GA, Ozelius LJ, Lane AH, Faryniarz AG, Chao MV, Huson S, Korf BR, Parry DM, Pericak-Vance MA et al. Genetic linkage of von Recklinghausen neurofibromatosis to the nerve growth factor receptor gene. *Cell* 1987;49:589-94.
- [14] Gregory PE, Gutmann DH, Mitchell A, Park S, Boguski M, Jacks T, Wood DL, Jove R, Collins FS. Neurofibromatosis type 1 gene product (neurofibromin) associates with microtubules. *Somat Cell Mol Genet*. 1993;19:265-74.
- [15] Li C, Cheng Y, Gutmann DA, Mangoura D. Differential localization of the neurofibromatosis 1 (NF1) gene product, neurofibromin, with the F-actin or microtubule cytoskeleton during differentiation of telencephalic neurons. *Brain Res Dev Brain Res* 2001;130:231-48.
- [16] Hsueh YP, Roberts AM, Volta M, Sheng M, Roberts RG. Bipartite interaction between neurofibromatosis type I protein (neurofibromin) and syndecan transmembrane heparan sulfate proteoglycans. *J Neurosci* 2001;21:3764-70.
- [17] Tong J, Hannan F, Zhu Y, Bernard A, Zhong Y. Neurofibromin regulates G protein-stimulated adenylyl cyclase activity. *Nat Neurosci*. 2002;5:95-6.

- [18] Listernick R, Ferner RE, Liu GT, Gutmann DH. Optic pathway gliomas in neurofibromatosis-1. controversies and recommendations. *Ann Neurol*. 2007;61:189-98.
- [19] Diwakar G, Zhang D, Jiang S, Hornyak TJ. Neurofibromin as a regulator of melanocyte development and differentiation. *J Cell Sci* 2008;121:167-77.
- [20] Martin GA, Viskochil D, Bollag G, McCabe PC, Crosier WJ, Haubruck H, Conroy L, Clark R, O'Connell P, Cawthon RM, et al. The GAP-related domain of the neurofibromatosis type 1 gene product interacts with ras p21. *Cell* 1990;63:843-9.
- [21] Weiss B, Bollag G, Shannon K. Hyperactive Ras as a therapeutic target in neurofibromatosis type 1. *Am J Med Genet* 1999;89:14-22.
- [22] Rubin JB, Gutmann DH. Neurofibromatosis type 1-a model for nervous system tumour formation? *Nat Rev Cancer* 2005;5:557-64.
- [23] Cainelli T, Giannetti A, Rebora A. *Manuale di Dermatologia Medica e Chirurgica*. IV ed., McGraw-Hill, 2008.
- [24] Lewis RA, Riccardi VM. Von Recklinghausen neurofibromatosis. Incidence of iris hamartomata. *Ophthalmology* 1981; 88:348-54.
- [25] Boyd KP, Korf BR, Theos A. Neurofibromatosis type 1. *J Am Acad Dermatol* 2009;61:1-14.
- [26] North KN, Riccardi V, Samango-Sprouse, Ferner R: Cognitive function and academic performance in neurofibromatosis. 1: Consensus statement from the Nf1 Cognitive Disorders Task Force. *Neurology* 1997; 48:1121-7.
- [27] Pride N Payne J North K. The impact of ADHD on the cognitive and academic functioning of children with NF1. *Dev Neuropsychol*. 2012;37:590-600.

- [28] Diggs-Andrews KA, Gutmann DH. Modeling cognitive dysfunction in neurofibromatosis-1. *Trends Neurosci.* 2013;36:237-47.
- [29] Kuorilehto T, Pöyhönen M, Bloigu R, Heikkinen J, Väänänen K, Peltonen J. Decreased bone mineral density and content in neurofibromatosis type 1: Lowest local values are located in the load-carrying parts of the body. *Osteoporosis Int* 2005;16:928-36.
- [30] Brunetti-Pierri N, Doty SB, Hicks J, Phan K, Mendoza-Londono R, Blazo M, Lee B. Generalized metabolic bone disease in Neurofibromatosis type I. *Mol Genet Metab* 2008;94:105-11.
- [31] Delucia TA, Yohay K, Widmann RF. Orthopaedic aspects of neurofibromatosis: update. *Curr Opin Pediatr* 2011;23:46-52.
- [32] Hagel C, Zils U, Peiper M, Kluwe L, Gothhard S, Friedrich RE, Zarakowski D, von DA, Mautner VF. Histopathology and clinical outcome of NF1 associated vs. Sporadic malignant peripheral nerve sheath tumors. *J Neurooncol* 2007;82:187-92.
- [33] Bognanno JR, Edwards MK, Lee TA, Dunn DW, Roos KL, Klatte EC. Cranial MR imaging in neurofibromatosis. *Am J Radiol* 1988;151:381-8.
- [34] Rasmussen SA, Yang Q, Friedman JM. Mortality in neurofibromatosis 1. An analysis using US death certificates. *Am J Hum Genet* 2001;68:1110-8.
- [35] Friedman JM, Arbiser J, Epstein JA, Gutmann DH, Huot SJ, Lin AE, Korf BR. Cardiovascular disease in neurofibromatosis. 1. A report of the Nf1 Cardiovascular Task Force. *Genet Med* 2003;4:105-11.
- [36] Kanski JJ. *Oftalmologia clinica*. Eds Elsevier Masson, Milano, 2008.
- [37] DeBella K, Szudek J, Friedman JM. Use of the national institutes of health criteria for diagnosis of neurofibromatosis 1 in children. *Pediatrics* 2000;105:608-14.

- [38] Obringer AC, Meadows AT, Zackai EH. The diagnosis of Neurofibromatosis 1 in the child under the age of 6 years. *Am J Dis Child* 1989;143:717-9.
- [39] Angelini C, Battistin L. *Neurologia Clinica*. I Ed. Società Editrice Esculapio, 2010.
- [40] Manzoni GC, Torelli P. *Neurologia*. I Ed. Società Editrice Esculapio, 2012.
- [41] Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvet A, Kleihues P. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol* 2007;114:97-109.
- [42] Minturn JE, Fisher MJ: Gliomas in children. *Curr Treat Options Neurol*. 2013 Jun; 15:316-27.
- [43] Ricci PE, Dungan DH. Imaging of low-and intermediate-grade gliomas. *Semin Radiat Oncol* 2001; 11:103-12
- [44] Shaw EG, Berkey B, Coons SW, Bullard D, Brachman D, Buckner JC, Mehta M. Recurrence following neurosurgeon-determined gross-total resection of adult supratentorial low-grade glioma: results of a prospective clinical trial. *J Neurosurg* 2008; 109:835-41.
- [45] Shaw EG, Wang M, Coons SW, et al: Randomized trial of radiation therapy plus procarbazine, lomustine, and vincristine chemotherapy for supratentorial adult low-grade glioma: initial results of RTOG 9802. *J Clin Oncol* 2012; 30:3065-70.
- [46] Wen PY, Kesari S: Malignant gliomas in adults. *N Engl J Med* 2008;359:492-507.
- [47] Chang SM, Parney IF, Huang W, Anderson FA Jr, Asher AL, Bernstein M, Lillehei KO, Brem H, Berger MS, Laws ER. Patterns of care for adults with newly diagnosed malignant glioma. *JAMA* 2005; 293:557-64.

[48] Seminog OO, Goldacre MJ. Risk of benign tumours of nervous system, and of malignant neoplasms, in people with neurofibromatosis: population based record-linkage study. *Br J Cancer* 2013; 108:193-8.

[49] Avery RA, Fisher MJ, Liu GT. Optic pathway gliomas. *J Neuroophthalmol* 2011;31:269-78.

[50] Listernick R, Charrow J. Intracranial gliomas in neurofibromatosis type 1. *Am J of Medical Genetics* 1999; 89; 38-44.

[51] Gutmann DH, Rasmussen SA, Wolkenstein P, MacCollin MM, Guha A, Inskip PD, North KN, Poyhonen M, Birch PH, Friedman JM.. Gliomas presenting after age 10 in individuals with neurofibromatosis type 1 (NF1). *Neurology* 2002; 59:759-61.

[52] Thiagalingam S, Flaherty M, Bilson F, North K. Neurofibromatosis type 1 and optic pathway gliomas: follow-up of 54 patients. *Ophthalmology* 2004;111:568-77.

[53] Listernick R, Charrow J, Greenwald M & Mets M. Natural history of optic pathway tumors in children with neurofibromatosis type 1: a longitudinal study. *The Journal of pediatrics* 1994;125:63-6.

[54] Cavicchiolo ME, Opocher E, Daverio M, Bendini M, Viscardi E, Bisogno G, Perilongo G, Da Dalt L. Diencephalic syndrome as sign of tumor progression in a child with neurofibromatosis type 1 and optic pathway glioma: a case report. *Child's Nervous System* 2013;29:1941-5.

[55] Rao AA, Naheedy JH, Chen JY, Robbins SL, Ramkumar HL. A clinical update and radiologic review of pediatric orbital and ocular tumors. *J Oncol* 2013;2013:975908.

[56] Balcer LJ, Liu GT, Heller G, Bilaniuk L, Volpe NJ, Galetta SL, Molloy PT, Phillips PC, Janss AJ, Vaughn S, Maguire MG. Visual loss in children with neurofibromatosis type 1 and optic pathway gliomas: relation to tumor location by

magnetic resonance imaging. *American journal of ophthalmology* 2001;131:442-5.

[57] Stiebel-Kalish H, Lusky M, Yassur Y, Kalish Y, Shuper A, Erlich R, Lubman S, Snir M. Swedish interactive thresholding algorithm fast for following visual fields in prepubertal idiopathic intracranial hypertension. *Ophthalmology* 2004;111:1673-5.

[58] Chang L, El Dairi MA, Frempong TA, Burner EL, Bhatti MT, Young TL, Leigh F. Optical coherence tomography in the evaluation of neurofibromatosis type-1 subjects with optic pathway gliomas. *J AAPOS* 2010;14:511-7.

[59] Imes RK, Hoyt WF. Magnetic resonance imaging signs of optic nerve gliomas in neurofibromatosis 1. *Am J Ophthalmol* 1991;111:729-34.

[60] Borit A, Richardson EP Jr. The biological and clinical behaviour of pilocytic astrocytomas of the optic pathways. *Brain* 1982; 105:161-87.

[61] King A, Listernick R, Charrow J, Piersall L, Gutmann DH. Optic pathway gliomas in neurofibromatosis type 1: the effect of presenting symptoms on outcome. *American Journal of Medical Genetics Part A* 2003;122:95-9.

[62] Shuper A, Horev G, Kornreich L, Michowiz S, Weitz R, Zaizov R, Cohen IJ. Visual pathway glioma: an erratic tumour with therapeutic dilemmas. *Arch Dis Child* 1997;76:259-63.

[63] Binning MJ, Liu JK, Kestle JR, Brockmeyer DL, Walker ML. Optic pathway gliomas: a review. *Neurosurg Focus* 2007;23:E2. Review.

[64] Packer RJ, Sutton LN, Bilaniuk LT, Radcliffe J, Rosenstock JG, Siegel KR, Bunin GR, Savino PJ, Bruce DA, Schut L. Treatment of chiasmatic/hypothalamic gliomas of childhood with chemotherapy: an update. *Ann Neurol* 1988;23:79-85.

[65] Petronio J, Edwards MS, Prados M, Freyberger S, Rabbitt J, Silver P, Levin

VA. Management of chiasmal and hypothalamic gliomas of infancy and childhood with chemotherapy. *J Neurosurg* 1991;74:701-8.

[66] Massimino M, Spreafico F, Cefalo G, Riccardi R, Tesoro-Tess JD, Gandola L, Riva D, Ruggiero A, Valentini L, Mazza E, Genitori L, Di Rocco C, Navarria P, Casanova M, Ferrari A, Luksch R, Terenziani M, Balestrini MR, Colosimo C, Fossati-Bellani F. High response rate to cisplatin/etoposide regimen in childhood low-grade glioma. *J Clin Oncol* 2002;20:4209-16.

[67] Packer RJ, Ater J, Allen J, Phillips P, Geyer R, Nicholson HS, Jakacki R, Kurczynski E, Needle M, Finlay J, Reaman G, Boyett JM. Carboplatin and vincristine chemotherapy for children with newly diagnosed progressive low-grade gliomas. *J Neurosurg* 1997;86:747-54.

[68] Jeon S, Lee NY, Park CK. Neovascular glaucoma following stereotactic radiosurgery for an optic nerve glioma: a case report. *Korean J Ophthalmol* 2010;24:252-5.

[69] Zamber RW, Kinyoun JL. Radiation retinopathy. *West J Med* 1992;157:530-3.

[70] Opocher E, Kremer L, Da Dalt L, van de Wetering MD, Viscardi E, Caron HN, Perilongo G. Prognostic factors for progression of childhood optic pathway glioma: a systematic review. *European journal of cancer* 2006;42:1807-16.

[71] Perilongo G, Moras P, Carollo C, Battistella A, Clementi M, Laverda A, Murgia A. Spontaneous partial regression of low-grade glioma in children with neurofibromatosis-1: a real possibility. *Journal of child neurology* 1999;14:352-6.

[72] Bruggers CS, Friedman HS, Phillips PC, Wiener MD, Hockenberger B, Oakes WJ, Buckley EG. Leptomeningeal dissemination of optic pathway gliomas in three children. *American journal of ophthalmology* 1991;111:719-23.

- [73] Galetta KM, Calabresi PA, Frohman EM, Balcer LJ. Optical coherence tomography (OCT): imaging the visual pathway as a model for neurodegeneration. *Neurotherapeutics* 2011;8:117-32.
- [74] Sakata LM, DeLeon-Ortega J, Sakata V, Girkin CA. Optical coherence tomography of the retina and optic nerve—a review. *Clinical Experiment Ophthalmol* 2009;37:90-9.
- [75] Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman JS, Stinson WG, Chang W, Hee MR, Flotte T, Gregory K, Puliafito CA et al. Optical coherence tomography. *Science* 1991;254:1178-81.
- [76] Fercher AF. Optical coherence tomography—development, principles, applications. *Zeitschrift für Medizinische Physik* 2010;20:251-276.
- [77] Hee MR, Izatt JA, Swanson EA, Huang D, Schuman JS, Lin CP, Puliafito CA, Fujimoto JG. Optical coherence tomography of the human retina. *Arch Ophthalmol* 1995;113:325-32.
- [78] Lumbroso L, Rispoli M. Guida all'interpretazione di un OCT Spectral Domain. Ed I.N.C., Innovation-News-Communication®, Roma, 2009.
- [79] Hrynchak P, Simpson T. Optical coherence tomography: an introduction to the technique and its use. *Optom Vis Sci* 2000;77:347-56.
- [80] Standring S. Anatomia del Gray. Le basi anatomiche per la pratica clinica. Pula G and Letterio T eds Elsevier-Masson Publ, Milano. 2009.
- [81] Spectralis HRA+OCT User Guide Software Version 5.3. Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Germany;2010.
- [82] Han IC, Jaffe GJ. Comparison of spectral-and time-domain optical coherence tomography for retinal thickness measurements in healthy and diseased eyes. *Am J Ophthalmol* 2009;147: 847-58.

[83] Drexler W, Fujimoto JG. State-of-the-art retinal optical coherence tomography. *Prog Retin Eye Res* 2008;27:45-88.

[84] Patel NB, Wheat JL, Rodriguez A, Tran V, Harwerth RS. Agreement between retinal nerve fiber layer measures from Spectralis and Cirrus spectral domain OCT. *Optom Vis Sci* 2012;89:E652-66.

[85] Kim JS, Ishikawa H, Sung KR, Xu J, Wollstein G, Bilonick RA, Gabriele ML, Kagemann L, Duker JS, Fujimoto JG, Schuman JS. Retinal nerve fibre layer thickness measurement reproducibility improved with spectral domain optical coherence tomography. *Br J Ophthalmol* 2009;93:1057-63.

[86] Serbecic N, Beutelspacher SC, Aboul-Enein FC, Kircher K, Reitner A, Schmidt-Erfurth U. Reproducibility of high-resolution optical coherence tomography measurements of the nerve fibre layer with the new Heidelberg Spectralis optical coherence tomography. *Br J Ophthalmol* 2011;95:804-10.

[87] Yanni SE, Wang J, Cheng CS, Locke KI, Wen Y, Birch DG, Birch EE. Normative reference ranges for the retinal nerve fiber layer, macula, and retinal layer thicknesses in children. *Am J Ophthalmol* 2013;155:354-360.

[88] Bendschneider D, Tornow RP, Horn FK, Laemmer R, Roessler CW, Juenemann AG, Kruse FE, Mardin CY. Retinal nerve fiber layer thickness in normals measured by spectral domain OCT. *J Glaucoma* 2010;19:475-82.

[89] Frohman EM, Fujimoto JG, Frohman TC, Calabresi PA, Cutter G, Balcer LJ. Optical coherence tomography: a window into the mechanisms of multiple sclerosis. *Nat Clin Pract Neurol* 2008;4:664-75.

[90] Fisher JB, Jacobs DA, Markowitz CE, Galetta SL, Volpe NJ, Nano-Schiavi ML, Baier ML, Frohman EM, Winslow H, Frohman TC, Calabresi PA, Maguire MG, Cutter GR, Balcer LJ. Relation of visual function to retinal nerve fiber layer thickness in multiple sclerosis. *Ophthalmology* 2006;113:324-32.

- [91] Pulicken M, Gordon-Lipkin E, Balcer LJ, Frohman E, Cutter G, Calabresi PA. Optical coherence tomography and disease subtype in multiple sclerosis. *Neurology* 2007;69:2085-92.
- [92] Jindahra P, Hedges TR, Mendoza-Santiesteban CE, Plant GT. Optical coherence tomography of the retina: applications in neurology. *Curr Opin Neurol* 2010;23:16-23.
- [93] Kallenbach K, Frederiksen J. Optical coherence tomography in optic neuritis and multiple sclerosis: a review. *Eur J Neurol* 2007;14:841-9.
- [94] Khanifar AA, Parlitsis GJ, Ehrlich JR, Aaker GD, D'Amico DJ, Gauthier SA, Kiss S. Retinal nerve fiber layer evaluation in multiple sclerosis with spectral domain optical coherence tomography. *Clin Ophthalmol* 2010;4:1007-13.
- [95] Lange AP, Zhu F, Sayao AL, Sadjadi R, Alkabie S, Traboulssee AL, & Tremlett H. Retinal nerve fiber layer thickness in benign multiple sclerosis. *Mult Scl Journal* 2013;19:1275-81.
- [96] Miglior S, Riva I, Guareschi M, Di Matteo F, Romanazzi F, Buffagni L, Rulli E. Retinal sensitivity and retinal nerve fiber layer thickness measured by optical coherence tomography in glaucoma. *Am J Ophthalmol* 2007;144: 733-40.
- [97] Iseri PK, Atliñaş O, Tokay T, Yüksel N. Relationship between cognitive impairment and retinal morphological and visual functional abnormalities in Alzheimer disease. *J Neuro Ophthalmol* 2006;26:18-24.
- [98] Hajee ME, March WF, Lazzaro DR, Wolintz AH, Shrier EM, Glazman S, Bodis-Wollner IG. Inner retinal layer thinning in Parkinson disease. *Arch Ophthalmol* 2009;127:737-41.
- [99] Fortuna F, Barboni P, Liguori R, Valentino ML, Savini G, Gellera C, Mariotti C, Rizzo G, Tonon C, Manners D, Lodi R, Sadun AA, Carelli V. Visual system involvement in patients with Friedreich's ataxia. *Brain* 2009;132:116-23.

[100] Viola F, Villani E, Natacci F, Selicorni A, Melloni G, Vezzola D, Barteselli G, Mapelli C, Pirondini C, Ratiglia R. Choroidal abnormalities detected by near infrared reflectance imaging as a new diagnostic criterion for Neurofibromatosis 1. *Ophthalmology* 2012;119:369-75.

[101] Parrozzani R, Clementi M, Frizziero L, Miglionico G, Perrini P, Cavarzeran F, Kotsafti O, Comacchio F, Trevisson E, Convento E, Fusetti S, Midena E. In Vivo Detection of Choroidal Abnormalities Related to NF1. Feasibility and Comparison With Standard NIH Diagnostic Criteria in Pediatric Patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56:6036-42 .

[102] Mentzel HJ, Seidel J, Fitzek C, Eichhorn A, Vogt S, Reichenbach JR, Zintl F, Kaiser WA. Pediatric brain MRI in neurofibromatosis type I. *Eur Radiol* 2005;15:814-22.

[103] Chou R, Dana T, Bougatsos C. Screening for Visual Impairment in Children Ages 1-5 Years: Systematic Review to Update the 2004 U.S. Preventive Services Task Force Recommendation. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK52708/>. Accessed May 5, 2013.

[104] American Academy of Pediatrics Committee on Practice and Ambulatory Medicine, Section on Ophthalmology. Eye examination and vision screening in infants, children, and young adults. *Pediatrics* 1996;98:153-7.

[105] Cyert L, Schmidt P, Maguire M, Moore B, Dobson V, Quinn G. Vision in Preschoolers (VIP) Study Group. Threshold visual acuity testing of preschool children using the crowded HOTV and Lea Symbols acuity tests. *J AAPOS* 2003;7:396-9.

[106] Vision in Preschoolers Study Group. Preschool visual acuity screening with HOTV and Lea symbols: testability and between-test agreement. *Optom Vis Sci* 2004;81:678-83.

[107] Pan Y, Tarczy-Hornoch K, Cotter SA, Wen G, Borchert MS, Azen SP, Varma R. Multi-Ethnic Pediatric Eye Disease Study Group. Visual acuity norms

in pre-school children: the Multi-Ethnic Pediatric Eye Disease Study *Optom Vis Sci* 2009;86:607-12.

[108] Serbecic N, Aboul-Enein F, Beutelspacher SC, Graf M, Kircher K, Geitzenauer W, Schmidt-Erfurth U. Heterogeneous pattern of retinal nerve fiber layer in multiple sclerosis. High resolution optical coherence tomography: potential and limitations. *PLoS One* 2010;5:e13877.

[109] Rebolleda G, González-López JJ, Muñoz-Negrete FJ, Oblanca N, Costa-Frossard L, Álvarez-Cermeño JC. Color-Code Agreement Among Stratus, Cirrus, and Spectralis Optical Coherence Tomography in Relapsing/Remitting Multiple Sclerosis With and Without Prior Optic Neuritis. *Am J Ophthalmol* 2013;155:890-7.

[110] Girkin CA, McGwin G Jr, Sinai MJ, Sekhar GC, Fingeret M, Wollstein G, Varma R, Greenfield D, Liebmann J, Araie M, Tomita G, Maeda N, Garway-Heath DF. Variation in optic nerve and macular structure with age and race with spectral-domain optical coherence tomography *Ophthalmology* 2011;118:2403-8

[111] Parrozzani R, Clementi M, Kotsafti O, Miglionico G, Trevisson E, Orlando G, Pilotto E, Midena E. Optical coherence tomography in the diagnosis of optic pathway gliomas. *Invest Ophthalmol Vis Sci.*2013;54:8112-8.

[112] Miller NR: Primary tumours of the optic nerve and its sheath. *Eye (Lond)* 2004;18:1026-37.

[113] Kornreich L, Blaser S, Schwarz M, Shuper A, Vishne TH, Cohen IJ, Faingold R, Michovitz S, Koplewitz B, Horev G. Optic pathway glioma: Correlation of imaging findings with the presence of neurofibromatosis. *AJNR Am J Neuroradiol* 2001;22:1963-9.

[114] Ferner RE, Huson SM, Thomas N, Moss C, Willshaw H, Evans DG, Upadhyaya M, Towers R, Gleeson M, Steiger C, Kirby A. Guidelines for the diagnosis and management of individuals with neurofibromatosis 1. *J Med Genet* 2007;44:81-8.

[115] Appleton RE, Jan JE. Delayed diagnosis of optic nerve glioma: a preventable cause of vision loss. *Pediatr Neurol* 1989;5:226-8.

[116] Listernick R, Ferner RE, Piersall L, Sharif S, Gutmann DH, Charrow J. Late-onset optic pathway tumors in children with neurofibromatosis 1. *Neurology* 2004; 63:1944.

[117] Avery RA, Bouffet E, Packer RJ, Reginald A. Feasibility and comparison of visual acuity testing methods in children with neurofibromatosis type 1 and/or optic pathway gliomas. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013;54:1034-8.

[118] Mash C, Dobson V. Long-term reliability and predictive validity of the TellerAcuity Card procedure. *Vision Res* 1998;38:619-26.

[119] Caen S, Cassiman C, Legius E, Casteels I. Comparative study of the ophthalmological examinations in neurofibromatosis type 1. Proposal for a new screening algorithm. *Eur J Paediatr Neurol*. 2015;19:415-22.

[120] Amy Shih-I Pai, Kathryn A. Rose, Chameen Samarawickrama, Reena Fotedar, George Burlutsky, Rohit Varma, and Paul Mitchell. Testability of refraction, stereopsis, and other ocular measures in preschool children: The Sydney Paediatric Eye Disease Study. *Journal of AAPOS* 2012; 16:185-92.

[121] Brown SM, Bradley JC, Monhart MJ, Baker DK. Normal values for Octopus tendency oriented perimetry in children 7 through 13 years old. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2005;243:886-93.

[122] North K, Cochineas C, Tang E, Fagan E. Optic gliomas in neurofibromatosis type 1: role of visual evoked potentials. *Pediatr Neurol*. 1994;10:117-23.

[123] Wolsey DH, Larson SA, Creel D, Hoffman R. Can screening for optic nerve gliomas in patients with neurofibromatosis type I be performed with visual evoked potential testing? *J AAPOS*. 2006;10:307-11.

[124] Chang BC, Mirabella G, Yagev R, Banh M, Mezer E, Parkin PC, Westall CA, Buncic JR. Screening and diagnosis of optic pathway gliomas in children with neurofibromatosis type 1 by using sweep visual evoked potentials. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007; 48:2895-902.

[125] Avery RA, Liu GT, Fisher MJ, Quinn GE, Belasco JB, Phillips PC, Maguire MG, Balcer LJ. Retinal nerve fiber layer thickness in children with optic pathway gliomas. *Am J Ophthalmol* 2011; 151:542-9.

[126] Topcu-Yilmaz P, Kasim B, Kiratli H. Investigation of retinal nerve fiber layer thickness in patients with neurofibromatosis-1. *Jpn J Ophthalmol.* 2014;58:172-6.

[127] Gu S, Glaug N, Cnaan A, Packer RJ, Avery RA. Ganglion cell layer-inner plexiform layer thickness and vision loss in young children with optic pathway gliomas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:1402-8.