

Pregledni prispevek/Review article

GENETIKA MARFANOVEGA SINDROMA

THE MARFAN SYNDROME GENETICS

Galina Pungerčič

Inštitut za biokemijo, Medicinska fakulteta, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana

Prispelo 2005-03-08, sprejeto 2005-04-13; ZDRAV VESTN 2005; 74: 317–20

Ključne besede: Marfanov sindrom; fibrilin-1; vezivno tkivo; mutacije; dedne bolezni

Izvleček – Izhodišča. Marfanov sindrom (MFS) je dedna bolezen vezivnega tkiva, ki se deduje avtosomno dominantno. Povzročajo ga mutacije v genu za glikoprotein fibrilin-1, ki je sestavni del mikrofibrilov zunajceličnega matriksa. Bolniki z Marfanovim sindromom kažejo širok spekter kliničnih znakov. Najpogostejše so spremembe na skeletu, srčno-žilnem sistemu in očeh. Srčno-žilne težave (predvsem anevrizma in disekcija aorte) so najpogostejši vzrok za zgodnjo smrtnost teh bolnikov. Odkrivanje povezanosti genotipa s fenotipom je zapleteno zaradi velikega števila mutacij in tudi zaradi heterogene klinične slike bolnikov z enako mutacijo. Zato je diagnosticiranje MFS kljub napredku v znanju o molekularni naravi Marfanovega sindroma še vedno skoraj izključno na podlagi kliničnih znakov v različnih delih telesa.

Zaključki. Zgodnje odkrivanje bolnikov z MFS je pomembno zaradi pravočasnega zdravljenja, ki lahko znatno izboljša pričakovano trajanje življenja. Žal pa je kljub napredku v diagnostičnih metodah, medikamentnem in operativnem zdravljenju MFS smrtnost zaradi nepravočasno diagnosticirane bolezni še vedno visoka. Prispevek prikazuje pregled molekularnogenetskih študij MFS od odkritja sprememb v genu za fibrilin-1 do danes.

Uvod

K pisanju prispevka o Marfanovem sindromu me je spodbudila anketa, namenjena bolnikom z različnimi genetskimi boleznimi, ki sta jo v svojih prizadevanjih za razširjanje informacij in znanja o napredku v genetiki človeka med zdravstvenim osebjem izvedli »National Coalition for Health Professional Education in Genetics« (NCHPEG) in »The Genetic Alliance« v decembru 2004. Eno izmed vprašanj je bilo: »Kako bi na podlagi izkušenj z zdravniki ocenili njihovo poznavanje genetike vaše bolezni?« Marfanov sindrom je genetska bolezen, ki jo v Sloveniji dokaj slabo poznana tako s kliničnega kot z genetskega vidika. Prispevek prikazuje pregled študij te dedne bolezni.

Marfanov sindrom (MFS) je dedna bolezen vezivnega tkiva, ki se deduje avtosomno dominantno. Bolniki z MFS imajo 50% možnosti, da bolezen prenesejo na svoje potomce. Razširjenost bolezni je 1/5000 do 1/10.000 in 15 do 30% primerov je sporadičnih (1, 2).

MFS se imenuje po francoskem pediatru Antoniu Bernard-Jeanu Marfanu, ki je leta 1896 pri 5-letni deklici opazil nesora-

Key words: Marfan syndrome; fibrillin-1; connective tissue; mutations; heritable disorder

Abstract – Background. The Marfan syndrome is an autosomal dominant heritable disorder of connective tissue. It is caused by mutations in the fibrillin-1 gene encoding glycoprotein fibrillin-1, a component of microfibrils of extracellular matrix. Patients with Marfan syndrome show wide spectra of clinical signs, primarily on skeletal, cardiovascular and ocular organ systems. Cardiovascular complications (especially aortic aneurysm and aortic dissection) are the most common cause of mortality of Marfan syndrome patients. Discovering genotype-phenotype correlations is complicated because of the large number of mutations reported as well as clinical heterogeneity among individuals with the same mutation. Despite the progress in the knowledge of the molecular nature of Marfan syndrome the diagnosis is still based mainly on the clinical features in the different body systems.

Conclusions. Early identification of patient with Marfan syndrome is of considerable importance because of appropriate treatment that can greatly improve life expectancy. Unfortunately, despite the improvement of diagnostic methods, medical and surgical therapy, the mortality due to undiagnosed Marfan syndrome is still high. The present article reviews the molecular genetic studies of Marfan syndrome since the discovery of the mutations in the fibrillin-1 gene.

zmerno dolge in ozke prste, slabo razvito mišičevje in deformirano hrbtenico. Kasneje so poleg teh težav pri bolnikih našli tudi težave z očmi in z aorto. In v začetku 20. stoletja se je za to skupino simptomov začelo uporabljati ime Marfanov sindrom (3).

Klinična slika

Glede na to, da je vezivno tkivo navzoče praktično v vseh telesnih organih, se Marfanov sindrom v mnogih delih telesa pojavi različno. Fenotip bolnikov se oblikuje med razvojem in se kaže kot posledica medsebojnega delovanja primarne preddispozicije vezivnega tkiva, fiziološkega stresa in časa. Najpogostejše so spremembe:

- skeleta (visoka, suha postava, dolihostenomelija, arahnodaktilija, nenavadno gibljivi sklepi, deformacije prsnega koša in hrbtenice [*pectus carinatum* ali *pectus excavatum*], skolioza, torakalna lordoza, visoko obokano ustno nebo);
- oči (kratkovidnost, *ectopia lentis*, odstop mrežnice, pojav glavkoma in katarakte pred 50. letom);

- srčno-žilnega sistema (prolaps mitralne zaklopke, mitralna in aortna regurgitacija, anevrizma in disekcija aorte);
- pljuč (dispneja, spontani pnevmotoraks);
- kože (*striae atrophicae* brez večjih sprememb v telesni teži);
- živčnega sistema (duralna ekstazija).

Najpogostejši vzrok smrti bolnikov z MFS so srčno-žilne težave. Če bolezen ni zdravljena, je smrtnost že pri starosti 30–40 let zelo visoka. Čeprav bolezen danes še ni ozdravljiva, se je z izboljšanjem diagnostičnih metod, medikamentnim zdravljenjem in izpopolnjevanjem operativnih tehnik pričakovano trajanje življenja dvignilo do 70 let. In tako lahko ti bolniki, če je bolezen pravočasno diagnosticirana in zdravljena kljub vsakodnevnim težavam živijo dokaj normalno življenje. Za dobro napoved izida bolezni je pomembno dobro sodelovanje bolnika z zdravniki specialisti, ki so dobro seznanjeni z naravo bolezni ter dobro sodelovanje med njimi. V procesu zdravljenja je pomembno redno spremljanje velikosti in funkcije aorte in srca, pregled oči za odkrivanje dislokacije leče in redni oftalmološki pregledi, pozorno spremljanje sprememb na skeletu, posebno v času otroštva in adolescence, zdravljenje z blokatorji beta za zmanjšanje stresa na aorto in prilagoditev načina življenja.

Fibrilin-1 in mutacije v genu za fibrilin-1

Od leta 1950, ko so se znanstveniki začeli resno ukvarjati s strukturo vezivnega tkiva, pa vse do leta 1991 so bile vse glavne komponente vezivnega tkiva potencialno mesto okvare pri MFS (npr. kolagen, elastin). Leta 1986 je dr. Sakai s sodelavci odkril enega od večjih proteinov v človeškem telesu, fibrilin-1 (4). Fibrilin-1 je glavna strukturna komponenta mikro-fibrilov zunajceličnega matriksa. Mikrofibрили fibrilina-1 lahko delujejo samostojno (npr. v *zonulae ciliaris*) ali pa skupaj z elastinom tvorijo osnovo elastičnih vlaken (npr. v aorti, pljučih, koži).

Gen za fibrilin-1 leži na kromosomu 15q21 in je dolg približno 235 kb. Vsebuje 65 eksonov (5). Proteinski produkt profibrilin-1 je 350 kDa velik, s cisteini bogat glikoprotein, ki po procesiranju preide v zrelo obliko fibrilin-1 (320 kDa), ki je glavna komponenta v 10–12 nm dolgih mikrofibrilih vezivnega tkiva (4, 6). Fibrilin-1 ima modularno strukturo, ki je značilna tudi za druge zunajcelične proteine. Sestavlja ga 47 epidermalnim rastnim faktorjem (EGF) podobnih domen, bogatih s cisteinskimi aminokislinskimi preostanki, ki s tvorbo disulfidnih vezi stabilizirajo strukturo domene. Večina EGF podobnih domen vsebuje mesta za vezavo kalcija in jih imenujemo EGF podobne domene za vezavo kalcija (cbEGF) (7). V osrednjem delu proteina se ta motiv ponovi kar 12-krat in tvori rigidno strukturo, ki je verjetno pomembna pri sestavljanju mikrofibrilov. Poleg cbEGF domen vsebuje fibrilin-1 tudi 7 domen, podobnih proteinom, ki vežejo transformirajoče rastne faktorje β (TGF- β), hibridne domene, bogate s cisteini, in regije, bogate s prolini.

Po procesiranju se protein fibrilin-1 izloči in tvori mikrofibrile v matriksu v povezavi z drugimi zunajceličnimi molekulami. Vendar so biokemijske poti njegovega sestavljanja v mikrofibrile še slabo poznane. Tako so tudi mehanizmi, s katerimi mutacije gena za fibrilin-1 povzročajo bolezenske znake, precej nejasni.

Odkrivanje gena, povezanega z MFS, je potekalo s pristopom odkrivanja kandidatnega gena. Odkriti so skušali, kateri gen bi lahko bil kartiran v isto regijo kromosoma kot fenotip bolezni. Z imunohistološkimi metodami z uporabo protiteles proti fibrilinu-1 so ugotovili, da gre pri bolnikih z MFS za pomanjkanje fibrilinskih mikrofibrilov (8). Ker je fibrilin sestavni del vezivnega tkiva, ki je navzoče v vseh tkivih, prizadetih pri MFS,

je David Hollister posumil, da je v njem vzrok za MFS. Z družinsko analizo genske povezanosti so MFS kartirali na dolgo ročico kromosoma 15 (15q) (9, 10) in kasneje še s hibridizacijo *in situ* na isto mesto na kromosomu 15q (15q21.1) kartirali tudi poskus delno kloniranega fibrilinskega gena (11). Nato so pri bolnikih z MFS odkrili mutacije v genu za fibrilin-1 (12). Od odkritja gena so odkrili že več kot 600 mutacij in seznam njihovih učinkov na fenotip se podaljšuje. Gen za fibrilin-1 vsebuje tudi mutacije, ki jih povezujejo s stanji, podobnimi MFS, in jih imenujejo tudi fibrilinopatije tipa 1. Leta 1995 so, da bi standardizirali informacije o teh mutacijah in da bi pospešili analizo mutacij in identifikacijo strukturno-funkcijskih in fenotipsko-genotipskih povezav, oblikovali podatkovno bazo »Human *FBN1* Mutation Database« (UMD-FBN1: <http://www.umd.be/>). Za vsako mutacijo je podana informacija na ravni gena in proteina ter na klinični ravni (13).

Različne mutacije v genu za fibrilin-1 povzročajo celo vrsto patoloških sprememb. Odkrivanje povezav genotipa s fenotipom pa je oteženo zaradi velikega števila mutacij in tudi zaradi heterogene klinične slike posameznikov z isto mutacijo. Bolniki s klasično obliko MFS so heterozigoti, kar pomeni, da je en genski alel normalen, drugi pa mutiran, in to zelo pogosto z drugačno smiselno mutacijo, ki prizadene enega od ohranjenih cisteinskih ostankov v EGF- ali TGF- β -domenah, kar naj bi povzročalo nepravilno zvijte proteina ali/in onemogočalo vezavo kalcija. Znano je, da skupina mutacij v regiji eksonov 24–32, ki nosijo zapise za TGF- β 3- in cbEGF-domene 11–18, povzroča hudo neonatalno obliko bolezni (14, 15), čeprav v tem področju najdemo tudi mutacije, ki povzročajo njeno klasično obliko, kar kaže na to, da je težko zanesljivo predvideti, ali bo neka mutacija v območju eksonov 24–33 vodila do klasične, atipično hude ali neonatalne oblike MFS (16). Mutacije v eksonih 59–65 verjetno povzročajo blago obliko bolezni (17). Z mutacijami v delu cbEGF13 povezujejo veliko različnih fenotipov. Substituciji C1117Y (18) in C1129Y (19) povzročata klasično obliko MFS, substitucija G1127S pa naj bi bila dejavnik tveganja za anevrizmo ascendentne aorte (20). Pri bolnikih z MFS, ki nimajo težav z očmi, je polovica mutacij v genskih eksonih 23–29. Bolniki z mutacijo G985E v eksonu 24 kažejo fenotip brez težav z očmi (21). Hutchinsonson s sodelavci domneva, da tudi razlike v ekspresiji normalnega fibrilina-1 lahko prispevajo k oblikovanju fenotipa (22).

Zanimivo je, da so mutacije v genu za fibrilin-1 vzrok za nepravilnosti pri približno 80% bolnikov z MFS, medtem ko pri mnogih bolnikih, ki kažejo znake Marfanovega sindroma po Ghentovi nozologiji, mutacij v tem genu ne najdemo. Fenotipska variabilnost ob prisotnosti iste mutacije na fibrilinu-1 kaže na to, da je verjetno pomemben tudi kakšen drug, še neodkrit dejavnik, ki vpliva na fenotip. Poleg gena za fibrilin-1 sta pri človeku poznana še gen za fibrilin-2, ki se nahaja na kromosomu 5, in gen za fibrilin-3 na kromosomu 19. Kažeta visoko stopnjo homologije z genom za fibrilin-1. Gen za fibrilin-2 naj bi bil odgovoren za kongenitalno kontrakturno arahnodaktilijo (23), povezan pa naj bi bil tudi s kongenitalnimi srčnimi anomalijami (24). Pri preiskovanju gena za fibrilin-3 pri bolnikih z MFS pa so odkrili veliko število alelnih variant, niso pa odkrili nobene mutacije, ki bi jo lahko povezali z MFS (1). To kaže na to, da so mutacije v genu za fibrilin-3 pri MFS redke ali pa ta gen ni odgovoren za nastanek te bolezni.

Patogeneza MFS

Obstajajo štiri modeli patogeneze MFS. Najprej so predvidevali dominantni negativni model. Mutirani monomer fibrilina-1 prekine sestavljanje normalnih molekul v mikrofibrile ali pa se mutirana molekula napačno vgradi v mikrofibril skupaj z normalnimi molekulami (25). Posledica tega je zmanjšana količina zunajceličnih mikrofibrilov v vezivnem tkivu bolnikov z MFS. Raven mutiranega proteina naj bi določala resnost bo-

lezni. Fibrilin-1 in mikrofibrili sodelujejo pri podpori elastičnemu tkivu, zato naj bi progresivna izguba mikrofibrilov vodila do nastanka aortne dilatacije in disekcije (26, 27). Druga dva modela predvidevata ovirano homeostazo elastičnih vlaken (28) in povečano občutljivost mutiranih molekul fibrilina-1 za proteolizo (29–32). Leta 2003 je dr. Neptune s sodelavci predvidela še četrti model patogeneze MFS (33). Študije na mišjih modelih MFS kažejo na to, da gre tudi za disregulacijo aktivacije in signaliziranja transformirajočih rastnih faktorjev β (TGF- β), kar lahko vodi do apoptoze celic v razvijajočih se pljučih. To kaže na to, da patologija MFS vsebuje mnoge dejavnike, ki delujejo na več ravneh.

Diagnostika

Kljub napredku v znanju o molekularni naravi MFS je diagnosticiranje bolezni še vedno skoraj izključno na podlagi kliničnih znakov v različnih telesnih sistemih in na podlagi družinske anamneze. Postavitev natančne diagnoze je mnogokrat težavna zaradi velike variabilnosti kliničnih znakov in kliničnega prekrivanja z MFS podobnimi stanji. Leta 1995 so postavili diagnostična merila, znana kot Ghentova nozologija, ki je v pomoč pri diagnosticiranju bolezni (34). Diagnostika s prepoznavanjem kliničnih znakov MFS je pri odraslih bolnikih običajno uspešna. Pri otrocih pa klinična slika pogostoma še ni popolnoma razvita. V teh primerih bi bila potrditev diagnoze s pomočjo molekularnih metod v veliko pomoč pri odločanju za nadaljnje zdravljenje in preprečevanje morebitnih srčno-žilnih težav. Analiza mutacij v genu za fibrilin-1 bi lahko bila v pomoč tudi pri identifikaciji posameznikov z visokim tveganjem, ki potrebujejo skrbno spremljanje, posebno v družinah s fenotipsko raznolikostjo. Vendar je zaradi omejenega znanja o povezanosti genotipa s fenotipom samo na osnovi znane mutacije v genu izredno težko oz. nemogoče zanesljivo napovedati določene simptome. Prenatalna ali presimptomatska diagnostika je uspešna samo, če je znano, za katero mutacijo v družini gre, ali če je znanih dovolj obolelih članov družine za analizo genske povezanosti. Vendar trenutno še ni na voljo nobene komercialne molekularne diagnostike, ki bi zaznala večino mutacij v genu za fibrilin-1. Sekvenčiranje celotnega gena za odkritje mutacij pa je drago in zamudno, tako odkrite mutacije pa so lahko tudi normalne variacije, kar posledično vodi v lažne negativne ali pozitivne izide. Kot diagnostiko ponekod uporabljajo tudi imunohistološko preiskavo kože za nenormalen fibrilin, vendar je pri taki preiskavi velika možnost lažnih pozitivnih izidov pri bolnikih z drugimi boleznimi vezivnega tkiva. Razvijajo pa nove metode za kvantitativno merjenje fragmentov fibrilina-1 v celicah in telesnih tekočinah. Fragmenti nastanejo zaradi cepitve fibrilina-1 s proteazami na mestih, ki so zaradi mutacij občutljivejša za proteolizo. Ta test, na osnovi metode »sendvič ELISA«, bi omogočal primerjavo količine fragmentov fibrilina-1 pri lažjih ali težjih oblikah bolezni in bi bil lahko v prihodnosti klinično uporaben za diagnostiko in/ali napoved izida zdravljenja MFS (35).

Razvoj mišjih modelov MFS

Še pred nekaj leti je naivno razumevanje patogeneze MFS dajalo zelo pesimističen pogled na možnost razvoja novih načinov zdravljenja. Z razvojem mišjih modelov MFS pa so dobili raziskovalci priložnost, da že na zgodnji stopnji razvoja opazujejo vlogo mikrofibrilov fibrilina-1 v povezovanju z elastičnimi vlakni v različnih tkivih (tudi v steni aorte). Raziskave so pokazale, da mikrofibrili fibrilina-1 niso nujni za oblikovanje elastičnih vlaken, kot so najprej domnevali, temveč so pomembni pri vzdrževanju elastičnega tkiva po rojstvu. Mišji modeli z MFS imajo ob rojstvu normalno število in izgled elastičnih

vlaknen, ki pa se postopoma poškodujejo med življenjem. Pokazalo se je tudi, da imajo mikrofibrili z mutiranim fibrilonom-1 negativen vpliv na normalno funkcijo drugih molekul. Fibrilin-1 ima torej tudi regulacijsko vlogo. Ena od teh vlog je, da veže in uravnava aktivnost proteina TGF- β , ki vpliva na mnogo celičnih funkcij (36). Fibrilin-1 veže neaktivno obliko TGF- β preko vezavnega proteina za latentni TGF- β (LTBP) in tako ohranja TGF- β v neaktivni obliki in s tem kontrolira raven aktivnosti TGF- β v matriksu. Mutirani fibrilin-1 pa ima manjšo sposobnost vezave kompleksa LTBP in latentnega TGF- β , kar povzroči sproščanje večje količine aktivnega TGF- β v matriksu. Pri mišjih modelih z MFS so določili povišano aktivnost TGF- β v pljučih. Prekinitev signalne poti TGF- β bi lahko bila uspešna pot za zdravljenje težav s pljuči in ostalih težav pri MFS, ki niso posledica samo strukturnih nepravilnosti tkiva (čežmerna rast kosti, nepravilnosti zaklopk, aortne anevrizme). Pokazali so, da z zmanjšanjem aktivnosti TGF- β z inhibitorji TGF- β lahko izboljšajo nenormalno strukturo pljuč in nepravilnosti zaklopk in aorte pri mišjih modelih MFS. S tem namenom preizkušajo, ali lahko zdravilo Losartan, ki znižuje krvni tlak in hkrati inhibira signalizacijo TGF- β , vzpostavi normalno ekspresijo TGF- β (37, 38). Z raziskavami na mišjih modelih so ugotovili tudi, da je vnetni odgovor v steni povečane aorte povezan s povečano aktivnostjo encimov, ki razgrajujejo matriks (metaloproteaze matriksa). Zdravila, ki inhibirajo te encime, so obetavna za zdravljenje vaskularnih težav pri MFS. V ta namen preizkušajo antibiotik Doxycycline, ki zmanjša izražanje teh encimov. Pokazali pa so tudi, da zmanjša pojavljanje abdominalnih anevrizem pri miših. Transgenske miši z dvema kopijama gena za normalni fibrilin-1 in eno kopijo mutiranega gena lahko proizvedejo normalne količine mikrofibrilov in ne kažejo znakov MFS. To kaže na to, da če se proizvede normalna količina normalnega fibrilina-1, je mutirani protein manj ali pa celo nepomemben. Torej bi lahko bila uspešna tista zdravila, ki bi stimulirala tvorbo fibrilina-1 (39). Verjetno obstaja tudi več možnih terapevtskih strategij, ki bi imele cilj blokirati sekundarne dogodke, povezane z MFS.

Zaključki

Odkritje mutacij, odgovornih za MFS, je odprlo novo poglavje o Marfanovem sindromu. Kljub obsežnim študijam in napredku v znanju molekularne genetike in biokemije pa nastanka MFS in izboljšanje kliničnih načinov zdravljenja MFS prepogosto ostaja nediagnosticiran in tako nepravočasno zdravljen. In je zato pogostokrat smrten. Najbolj dramatično to lahko vidimo pri nenadnih smrtih zaradi raztrganja aorte pri mladih ljudeh, pogosto pri športnikih (zelo znan je primer odbojkarice Flo Hyman) (40). Za ugodno napoved izida bolezni pri bolnikih z MFS je kritičnega pomena pravočasno diagnosticiranje, prilagoditev življenja bolezenskemu stanju, skrbno spremljanje razvoja bolezenskih znakov in morebitnega napredovanja bolezni (predvsem kardiovaskularnih težav) in pravočasno medikamentno ali operativno zdravljenje.

Literatura

1. Uyeda T, Takahashi T, Eto S, Sato T, Xu G, Kanezaki R, et al. Three novel mutations of the fibrillin-1 gene and ten single nucleotide polymorphisms of the fibrillin-3 gene in Marfan syndrome patients. *J Hum Genet* 2004; 49: 404–7.
2. Pyeritz RE. The Marfan syndrome. *Annu Rev Med* 2000; 51: 481–510.
3. Pyeritz ER, Gasner C. The Marfan syndrome. Fifth edition. New York: National Marfan foundation; 1999.
4. Sakai LY, Keene DR, Engvall E. Fibrillin, a new 350-kD glycoprotein, is a component of extracellular microfibrils. *J Cell Biol* 1986; 103: 2499–509.
5. Biery NJ, Eldadah ZA, Moore CS, Stetten G, Spencer F, Dietz HC. Revised genomic organization of FBN1 and significance for regulated gene expression. *Genomics* 1999; 56: 70–7.

6. Kielty CM, Baldock C, Lee D, Rock MJ, Ashworth JL, Shuttleworth CA. Fibrillin: from microfibril assembly to biomechanical function. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2002; 357: 207–17.
7. Handford PA, Mayhew M, Brownlee GG. Calcium binding to fibrillin? *Nature* 1991; 353: 395.
8. Hollister DW, Godfrey M, Sakai LY, Pyeritz RE. Immunohistologic abnormalities of the microfibrillar-fiber system in the Marfan syndrome. *N Engl J Med* 1990; 323: 152–9.
9. Kainulainen K, Pulkkinen L, Savolainen A, Kaitila I, Peltonen L. Location on chromosome 15 of the gene defect causing Marfan syndrome. *N Engl J Med* 1990; 323: 935–9.
10. Dietz HC, Pyeritz RE, Hall BD, Cadle RG, Hamosh A, Schwartz J, et al. The Marfan syndrome locus: confirmation of assignment to chromosome 15 and identification of tightly linked markers at 15q15-q21.3. *Genomics* 1991; 9: 355–61.
11. Magenis RE, Maslen CL, Smith L, Allen L, Sakai LY. Localization of the fibrillin (FBN) gene to chromosome 15, band q21.1. *Genomics* 1991; 11: 346–51.
12. Dietz HC, Cutting GR, Pyeritz RE, Maslen CL, Sakai LY, Corson GM, et al. Marfan syndrome caused by a recurrent de novo missense mutation in the fibrillin gene. *Nature* 1991; 352: 337–9.
13. Colod-Beroud G, Le Bourdelles S, Ades L, Ala-Kokko L, Booms P, Boxer M, et al. Update of the UMD-FBN1 mutation database and creation of an FBN1 polymorphism database. *Hum Mutat* 2003; 22: 199–208.
14. Kainulainen K, Karttunen L, Puhakka L, Sakai L, Peltonen L. Mutations in the fibrillin gene responsible for dominant ectopia lentis and neonatal Marfan syndrome. *Nat Genet* 1994; 6: 64–9.
15. Putnam EA, Cho M, Zinn AB, Towbin JA, Byers PH, Milewicz DM. Delineation of the Marfan phenotype associated with mutations in exons 23–32 of the FBN1 gene. *Am J Med Genet* 1996; 62: 233–42.
16. Tiecke F, Katze S, Booms P, Robinson PN, Neumann L, Godfrey M, et al. Classic, atypically severe and neonatal Marfan syndrome: twelve mutations and genotype-phenotype correlations in FBN1 exons 24–40. *Eur J Hum Genet* 2001; 9: 13–21.
17. Palz M, Tiecke F, Booms P, Goldner B, Rosenberg T, Fuchs J, et al. Clustering of mutations associated with mild Marfan-like phenotypes in the 3' region of FBN1 suggests a potential genotype-phenotype correlation. *Am J Med Genet* 2000; 91: 212–21.
18. Tynan K, Comeau K, Pearson M, Wilgenbus P, Levitt D, Gasner C, et al. Mutation screening of complete fibrillin-1 coding sequence: report of five new mutations, including two in 8-cysteine domains. *Hum Mol Genet* 1993; 2: 1813–21.
19. El-Aleem AA, Karck M, Haverich A, Schmidtke J, Arslan-Kirchner M. Identification of 9 novel FBN1 mutations in German patients with Marfan syndrome. *Hum Mutat* 1999; 14: 181.
20. Francke U, Berg MA, Tynan K, Brenn T, Liu W, Aoyama T, et al. A Gly1127Ser mutation in an EGF-like domain of the fibrillin-1 gene is a risk factor for ascending aortic aneurysm and dissection. *Am J Hum Genet* 1995; 56: 1287–96.
21. Colod-Beroud G, Lackmy-Port-Lys M, Jondeau G, Mathieu M, Maingourd Y, Coulon M, et al. Demonstration of the recurrence of Marfan-like skeletal and cardiovascular manifestations due to germline mosaicism for an FBN1 mutation. *Am J Hum Genet* 1999; 65: 917–21.
22. Hutchinson S, Furger A, Halliday D, Judge DP, Jefferson A, Dietz HC, et al. Allelic variation in normal human FBN1 expression in a family with Marfan syndrome: a potential modifier of phenotype? *Hum Mol Genet* 2003; 12: 2269–76.
23. Lee B, Godfrey M, Vitale E, Hori H, Mattei MG, Sarfarazi M, et al. Linkage of Marfan syndrome and a phenotypically related disorder to two different fibrillin genes. *Nature* 1991; 352: 330–4.
24. Maslen C. Genetic variation of fibrillin-2 as a risk factor for congenital heart disease. *Connective Issues-Marfan Research Update* 2003; 22: 11.
25. Dietz HC, McIntosh I, Sakai LY, Corson GM, Chalberg SC, Pyeritz RE, et al. Four novel FBN1 mutations: significance for mutant transcript level and EGF-like domain calcium binding in the pathogenesis of Marfan syndrome. *Genomics* 1993; 17: 468–75.
26. Pereira L, Andrikopoulos K, Tian J, Lee SY, Keene DR, Ono R, et al. Targeting of the gene encoding fibrillin-1 recapitulates the vascular aspect of Marfan syndrome. *Nat Genet* 1997; 17: 218–22.
27. Pereira L, Lee SY, Gayraud B, Andrikopoulos K, Shapiro SD, Bunton T, et al. Pathogenetic sequence for aneurysm revealed in mice underexpressing fibrillin-1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 3819–23.
28. Ramirez F, Gayraud B, Pereira L. Marfan syndrome: new clues to genotype-phenotype correlations. *Ann Med* 1999; 31: 202–7.
29. Reinhardt DP, Ono RN, Sakai LY. Calcium stabilizes fibrillin-1 against proteolytic degradation. *J Biol Chem* 1997; 272: 1231–6.
30. Booms P, Tiecke F, Rosenberg T, Hagemeyer C, Robinson PN. Differential effect of FBN1 mutations on in vitro proteolysis of recombinant fibrillin-1 fragments. *Hum Genet* 2000; 107: 216–24.
31. McGettrick AJ, Knott V, Willis A, Handford PA. Molecular effects of calcium binding mutations in Marfan syndrome depend on domain context. *Hum Mol Genet* 2000; 9: 1987–94.
32. Reinhardt DP, Ono RN, Notbohm H, Muller PK, Bachinger HP, Sakai LY. Mutations in calcium-binding epidermal growth factor modules render fibrillin-1 susceptible to proteolysis. A potential disease-causing mechanism in Marfan syndrome. *J Biol Chem* 2000; 275: 12339–45.
33. Neptune ER, Frischmeyer PA, Arking DE, Myers L, Bunton TE, Gayraud B, et al. Dysregulation of TGF-beta activation contributes to pathogenesis in Marfan syndrome. *Nat Genet* 2003; 33: 407–11.
34. De Paepe A, Devereux RB, Dietz HC, Hennekam RC, Pyeritz RE. Revised diagnostic criteria for the Marfan syndrome. *Am J Med Genet* 1996; 62: 417–26.
35. Sakai LY. Development of a blood test to assess fibrillin fragmentation in the Marfan syndrome. *Connective Issues* 2004; 23: 11.
36. Kaartinen V, Warburton D. Fibrillin controls TGF-beta activation. *Nat Genet* 2003; 33: 331–2.
37. Grima J. Hope on the horizon: Revelations provided by the Marfan mouse. *Connective Issues-Marfan Research Update* 2002; 21: 9.
38. Dietz H. A whole lot of optimism (tempered by a healthy dose of caution). *Connective Issues* 2004; 23: 5.
39. Dietz H. Current research provides hope, promise for life-threatening complications of the Marfan syndrome. *Connective Issues* 2002; 21: 1.
40. Demak R. *Sports illustrated* 1986; 64: 30–5.