Rev Port Cardiol. 2011;**30(7-8)**:649-654

Revista Portuguesa de
Cardiologia
Portuguese Journal of Cardiology
www.revportcardiol.org

ARTIGO ORIGINAL

# Caracterização genotípica de uma população de doentes portugueses com síndrome de Marfan

**Ana Lebreiro[a,*], Elisabete Martins[a], Cristina Cruz[a], Jorge Almeida[b], Sofia Pimenta[c], Miguel Bernardes[c], José Carlos Machado[d,e], M. Júlia Maciel[a,e], Cassiano Abreu-Lima[a,e]**

[a]*Serviço de Cardiologia, Hospital de S. João, Porto, Portugal*
[b]*Serviço de Cirurgia Cardio-Torácica, Hospital de S. João, Porto, Portugal*
[c]*Serviço de Reumatologia, Hospital de S. João, Porto, Portugal*
[d]*Instituto de Patologia e Imunologia, Universidade do Porto, Porto, Portugal*
[e]*Faculdade de Medicina, Universidade do Porto, Porto, Portugal*

Recebido a 20 de julho de 2010; aceite a 11 de março de 2011

**PALAVRAS-CHAVE**
Síndrome de Marfan;
Mutações FBN1;
Genótipo

**Resumo**
*Introdução:* O diagnóstico da Síndrome de Marfan (SM) depende fundamentalmente de uma avaliação clínica multidisciplinar. O seu diagnóstico molecular, através da identificação de mutações no gene FBN1, pode permitir estabelecer um diagnóstico definitivo mesmo perante fenótipos atípicos ou «incompletos» e reconhecer precocemente portadores assintomáticos.
*Objectivos:* O presente trabalho teve como objectivo principal avaliar a frequência e o tipo de mutações no gene FBN1, numa população de doentes com SM, referenciados a um centro hospitalar de cuidados terciários, com cirurgia torácica.
*Métodos:* A nossa amostra incluiu 30 indivíduos com SM (provenientes de 14 famílias), que foram avaliados em consulta de Cardiologia, Reumatologia e Oftalmologia. Em todos os casos foi efectuada a pesquisa de mutações no gene FBN1 a partir de ADN obtido de amostras de sangue periférico, utilizando a técnica de amplificação por *Polymerase Chain Reaction* e posterior sequenciação génica.
*Resultados:* Identificámos 12 mutações distintas nas 14 famílias estudadas. Destas, apenas duas estavam previamente descritas na literatura, sendo as restantes 10, novas mutações. Encontrámos mutações *missense* em 36% dos casos e mutações conduzindo à formação de codões de terminação prematura em 50% dos casos.
*Conclusões:* Este trabalho constitui a primeira descrição de resultados de análise genotípica em doentes portugueses com SM, de que temos conhecimento. Com este trabalho, realçamos a importância de uma avaliação clínica multidisciplinar e da utilidade da pesquisa de mutações no gene FBN1 em casos seleccionados. Ao descrever 10 novas mutações, contribuímos ainda para a ampliação do espectro de variantes do gene da FBN1 associadas à SM.
© 2010 Sociedade Portuguesa de Cardiologia. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos os direitos reservados.

*Autor para correspondência.
*Correio electrónico:* ana.lebreiro@gmail.com (A. Lebreiro).

0870-2551/$ - see front matter © 2010 Sociedade Portuguesa de Cardiologia. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos os direitos reservados.

**KEYWORDS**
Marfan syndrome;
FBN1 mutations;
Genotype

**Genotypic characterization of a Portuguese population of Marfan syndrome patients**

**Abstract**
*Introduction*: The diagnosis of Marfan syndrome (MFS) depends on a multidisciplinary clinical evaluation. Molecular study to identify mutations in the *FBN1* gene can establish a definitive diagnosis even with atypical or «incomplete» phenotypes and enable earlier diagnosis in asymptomatic patients.
*Objectives*: The aim of the present work was to evaluate the frequency and type of *FBN1* gene mutations in a population of Marfan syndrome patients referred to a tertiary care center with cardiothoracic surgery.
*Methods*: Our sample included 30 individuals with MFS (from 14 families), evaluated in cardiology, rheumatology and ophthalmology consultations. In all patients, DNA was extracted from a peripheral blood sample and mutation screening of the entire coding sequence of the *FBN1* gene was then performed, using the polymerase chain reaction.
*Results*: We identified 12 different mutations in the 14 families studied. Of these, only two had been previously described in the literature, while the other 10 were found to be new mutations; 36% of patients carried a missense mutation and 50% carried a mutation leading to a premature termination codon.
*Conclusions*: To the best of our knowledge this is the first genotypic description of Portuguese patients with MFS. In this study, we highlight the need for comprehensive clinical evaluation of these patients and the value of *FBN1* mutation analysis in selected cases. By describing 10 new mutations, we have also helped broaden the spectrum of known *FBN1* mutations associated with MFS.
© 2010 Sociedade Portuguesa de Cardiologia. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

## Introdução

O diagnóstico da Síndrome de Marfan (SM) depende de uma avaliação clínica multidisciplinar e da identificação de um conjunto de critérios clínicos, recentemente revistos, designados por critérios de Ghent. O espectro das manifestações clínicas é muito variado, estando tipicamente envolvidos o sistema cardiovascular, músculo-esquelético e ocular.

O diagnóstico molecular da SM inclui a identificação de mutações no gene FBN1, o qual pode permitir estabelecer o diagnóstico definitivo, mesmo perante um fenótipo atípico ou «incompleto». Este gene, localizado no cromossoma 15q21.1, codifica uma glicoproteína, a profibrilina-1, que, após processamento, se designa por fibrilina-1, um componente abundante das microfibrilas extra-celulares. Até ao momento foram descritas mais de 600 mutações distintas, sendo a grande maioria exclusiva para cada caso-índex ou família[3].

As mutações no gene FBN1 podem ser identificadas ao longo de todo o gene e podem ser do tipo *missense* ou conduzirem à formação de codões de terminação prematura (CTP).

São escassas as correlações genótipo-fenótipo estabelecidas, destacando-se a associação da SM neonatal, a forma mais grave da síndrome, com a presença de mutações nos exões 24-32.

O reconhecimento precoce de portadores assintomáticos é actualmente desejável, dada a penetrância elevada das mutações e a morbi-mortalidade da SM. Esta última relaciona-se fundamentalmente com o risco de ruptura de aneurismas e dissecção da aorta ascendente, existindo opções terapêuticas capazes de modificar o prognóstico destes doentes, se expeditamente aplicadas.

Relativamente à população portuguesa, são ainda escassos os dados publicados concernentes ao diagnóstico molecular de doentes com SM.

## Objectivos

O presente trabalho teve como objectivo principal avaliar a frequência e o tipo de mutações no gene FBN1, numa população de doentes com SM, referenciados a um centro hospitalar de cuidados terciários, com cirurgia torácica.

## Métodos

### Identificação dos casos-índex

Os doentes foram identificados a partir da base de dados do nosso hospital, referente a um período de cerca de 20 anos, compreendido entre Janeiro de 1989 a Dezembro de 2008. Nesta base estão incluídos os doentes observados em consultas médicas e/ou com internamento(s) prévio(s) na nossa instituição.

Os critérios de selecção foram a presença de uma idade actual igual ou superior a 18 anos e a referência ao diagnóstico de «Síndrome de Marfan».

Os doentes adultos identificados foram contactados por correio ou telefone, e os respectivos médicos assistentes foram informados, tendo em vista a inclusão dos primeiros no projecto de investigação.

Numa fase ulterior, todos os familiares em primeiro grau de casos-índex foram convidados a participar no estudo.

### Avaliação clínica

Todos os indivíduos foram (re)avaliados em consultas de Cardiologia, Reumatologia e Oftalmologia, entre Outubro de 2008 e Maio de 2009.

Os ecocardiogramas foram realizados por dois operadores experientes, utilizando ecocardiógrafos Vivid 3 (GE Healthcare) ou iE33 (Phiplips) e as medições efectuadas de acordo com as recomendações da *American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards* and *European Association of Echocardiography*.

Foram obtidas imagens nas incidências paraesternal esquerda, apical, supraesternal e subcostal. O diâmetro da raiz da aorta, ao nível dos seios de Valsalva e junção sinotubular e da aorta ascendente, foram medidos em paraesternal eixo-longo; o diâmetro do arco aórtico e da aorta torácica descendente foram calculados em incidência supraesternal.

Foi considerado existir dilatação da raiz da aorta quando o diâmetro, medido ao nível dos Seios de Valsalva, excedia o limite superior da normalidade, de acordo com a idade e a superfície corporal do doente.

A presença de escoliose e de protusão acetabular foi averiguada através da análise das radiografias da coluna vertebral e da anca, respectivamente, em consulta de Reumatologia. Os critérios cutâneos de SM foram também avaliados por esta especialidade médica.

O envolvimento do sistema respiratório foi apurado através da história clínica, questionando os doentes sobre a existência de antecedentes de pneumotórax.

A presença de ectopia *lentis* foi avaliada em todos os doentes, em consulta de Oftalmologia.

### Estudo molecular

A pesquisa de mutações no gene FBN1 foi efectuada a partir de ADN obtido de amostras de sangue periférico.

Foi utilizada a técnica de amplificação por PCR (*Polymerase Chain Reaction*) e posterior sequenciação, aplicada à totalidade da sequência codificante do gene (65 exões).

No caso de não serem identificadas mutações por esta técnica, foi pesquisada a presença de rearranjos genómicos usando a técnica de MLPA (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*). Todos os resultados positivos foram confirmados, replicando a análise na sua totalidade.

No caso de mutações novas, não descritas na literatura (UMD database), a patogenecidade foi averiguada por comparação com a base de polimorfismos nucleotídicos (Ensembl database) e utilização do algoritmo informático PolyPhen (PolyPhen database).

### Análise estatística

A análise estatística foi levada a cabo com o *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) 16.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). As variáveis contínuas são apresentadas como média ± desvio padrão, ou caso não apresentem distribuição normal, como mediana (intervalos interquartis). As variáveis categóricas são apresentadas como contagem de casos e proporções. As diferenças entre médias foram avaliadas pelo teste *t* de Student para amostras independentes, salvo quando a distribuição não era normal circunstância em que se empregou o teste de U de Mann-Whitney. Para rejeitar a hipótese nula utilizou-se o valor de $p < 0{,}05$.

## Resultados

A nossa amostra incluiu 30 indivíduos com SM, elementos de 14 famílias não-aparentadas (14 casos índex e 16 familiares); 57% do sexo masculino, com idade média de 37 ± 12 anos.

Vinte e sete doentes (90%) apresentavam critérios cardiovasculares *major*, treze (43%) tinham já sido submetidos a cirurgia de substituição da raiz da aorta, 43% apresentavam prolapso da válvula mitral; 23% evidência de dissecção da aorta e 23% dilatação da aorta descendente. Dezanove doentes (63%) estavam medicados com bloqueador β, seis (20%) com Inibidores da Enzima de Conversão da Angiotensina (IECA) e sete (23%) com Antagonistas dos Receptores da Angiotensina 2 (ARA2).

A prevalência dos restantes critérios de Ghent encontra-se descriminada na Tabela 1.

O estudo genético foi realizado nos catorze casos-índex e em vinte e dois familiares (16 familiares com teste genético positivo e 8 sem identificação da mutação no gene FBN1). A descrição dos resultados moleculares e a sua relação com a presença dos critérios de SM estão explicitadas na Tabela 2.

Identificámos 12 mutações distintas nas 14 famílias: dez novas mutações, duas recorrentes (casos 8 e 13; mutações Cys2111Arg e Arg861X). Um dos doentes era portador de duas mutações distintas. As mutações foram identificadas em domínios funcionalmente distintos: três envolvendo unidades TGFβ-like; seis em unidades cbEGF-like; duas em unidades híbridas; uma na região terminal COOH.

Em três dos casos-índex, que cumpriam os critérios de Ghent, não foi encontrada nenhuma mutação no gene FBN1.

## Discussão

Esta constitui a primeira descrição de resultados de análise genotípica em doentes portugueses com SM, de que temos conhecimento.

Obtivemos uma taxa de detecção de mutações ligeiramente inferior à descrita na literatura, para doentes que cumprem critérios de Ghent[10,11] (79% *versus* 90%, respectivamente), mas esta aparente menor percentagem pode explicar-se pela imprecisão da estimativa inerente à pequena dimensão da amostra (intervalo de confiança: 64,4%-93,6%).

A elevada frequência de novas mutações identificadas (10 em 12), corrobora o conceito actual de que a maioria dos doentes com SM é portadora duma variante genética que é exclusiva para cada família.

Curiosamente, o tipo e distribuição das mutações nos nossos doentes foram significativamente distintos dos dados publicados.

Encontrámos 36% de mutações *missense* e 50% de mutações conduzindo à formação de CTP. De acordo

**Tabela 1** Descrição e prevalência dos critérios de Ghent na população estudada

| Critérios de Ghent | N.º doentes/Total amostra estudada (% válida) |
|---|---|
| Proporção Membros Superiores/Altura > 1,05 | 15/30 (50,0) |
| Sinal do punho e polegar | 12/30 (40,0) |
| *Pectus carinatum* | 8/30 (26,7) |
| *Pectus excavatum* com cirurgia - sem cirurgia | 1/30 (3,3)-6/30 (20,0) |
| Pés *planus* | 17/28 (60,7) |
| Protusão acetabular | 17/19 (89,5) |
| Escoliose > 20º | 13/29 (44,8) |
| Hiperlaxidez articular | 21/30 (70,0) |
| Alterações faciais (micrognatismo, hipoplasia malar, palato arqueado, encavalgamento dentário) | 28/30 (93,3) |
| Critérios *major* musculo-esqueléticos | 16/25 (64,0) |
| Envolvimento músculo-esquelético (sem critérios *major*) | 14/30 (46,7) |
| Dilatação aorta ascendente (sem cirurgia) – Com cirurgia prévia da aorta ascendente | 12/30 (40,0)-12/30 (40,0) |
| Dissecção aórtica | 7/30 (23,3) |
| Dilatação da aorta descendente | 7/30 (23,3) |
| Prolapso da válvula mitral (com e sem cirurgia) | 13/30 (43,3) |
| Dilatação da artéria pulmonar | 2/30 (6,7) |
| Critérios *major* cardiovasculares | 27/30 (90,0) |
| Envolvimento cardiovascular (sem critérios *major*) | 2/30 (6,7) |
| Estrias | 17/30 (43,3) |
| Hérnias | 4/30 (13,3) |
| Envolvimento cutâneo | 19/30 (63,3) |
| Pneumotórax espontâneo | 4/30 (13,3) |
| Bolhas apicais | 3/30 (10,0) |
| Envolvimento pulmonar | 4/30 (13,3) |
| Critérios oculares *major* (ectopia lentis com ou sem cirurgia) | 5/19 (26,3) |
| Presença de história familiar ou de mutação FBN1 | 28/30 (93,3) |

com o esperado, esteve o facto de a grande maioria dos portadores de mutações conduzindo à formação de CTP, não apresentarem ectopia *lentis*.

Na literatura, as mutações *missense* correspondem a aproximadamente dois terços das mutações do gene FBN1, comprometendo, na sua maioria, os resíduos de cisteína associados às unidades cbEGF, e assim interferindo com ligações dissulfídicas e com a estabilidade proteica. Indivíduos com estas mutações têm maior probabilidade de apresentar ectopia *lentis*. Nos restantes 25% dos doentes com SM, as mutações são habitualmente do tipo CTP, conduzindo à formação de proteínas incompletas, que podem interferir com a polimerização proteica normal (efeito dominante negativo), ou resultarem em proteínas funcionalmente inactivas, por degradação preferencial do RNA, reduzindo a quantidade total de fibrilina-1 (haploinsuficiência)[10,13,14]. Os indivíduos com este tipo de mutações tendem a apresentar alterações musculoesqueléticas mais marcadas, nomeadamente maior laxidez articular, uma maior propensão para a dissecção aórtica[9,15] e um risco significativamente inferior de envolvimento ocular, embora não exista uma relação directa entre a gravidade do fenótipo e a quantidade de mutante transcrito.

Os nossos resultados poderão estar influenciados por um viés de selecção. De facto, a presente série provém de um centro de cuidados terciários, tendo assim uma elevada taxa de cumprimento dos critérios de Ghent (quer do foro cardiovascular, quer musculoesquelético) e, nesta circunstância, podem representar um subgrupo onde efectivamente as mutações *nonsense são as* mais prevalentes.

O facto de, num dos casos, termos descoberto a presença de duas mutações distintas realça o valor da sequenciação total do gene, sobretudo em doentes seleccionados. Na literatura, os casos raros de heterozigotia composta no SM, caracterizaram-se pela presença de um fenótipo mais grave. Também a presença de mutações múltiplas pode contribuir para a variabilidade fenotípica intra-familiar.

Não foi possível identificar nenhum portador assintomático, isto é, portador de mutações no gene FBN1 e sem manifestações clínicas *major*. No entanto, o rastreio familiar permitiu reconhecer indivíduos com alterações morfológicas ligeiras e insuficientes para o diagnóstico de SM, possibilitando um seguimento clínico mais adequado e o aconselhamento genético. Por outro lado, a exclusão de SM noutros elementos familiares permitiu dispensar a realização de avaliações clínicas e imagiológicas periódicas.

Nos três casos em que não encontrámos nenhuma mutação é possível que a mesma ocorra nas regiões promotoras ou regiões intrónicas não codificáveis do gene FBN1, a grandes rearranjos não detectáveis por técnica de análise de *polymerase chain reaction* (PCR) ou à presença de mutações em outros genes, nomeadamente nos genes que codificam os receptores 1 e 2 do TGFβ (TGFβRI e TGFβRII).

**Tabela 2** Características moleculares e clínicas de 14 casos índex e 16 familiares que cumprem critérios de Ghent para SM

| Casos índex e familiares afectados | Sexo | Idade | Exão | Mutação (ADN) | Alteração na Proteína | Módulo | Sistema Cardiovascular | Sistema Musculo-esquelético | Olhos | Sistema Respiratório | Pele |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Família 1** | | | 16 | C1995G | Tyr665X | TGFβ-like#2 | | | | | |
| **1** | F | 37 | | | | | **DisAo tB**, PVM | **Maj.** | — | — | + |
| **1-A** | M | 36 | | | | | **DisAo tB, DA**, PVM | **Maj.** | — | — | + |
| **1-B** | F | 39 | | | | | **DA** | **Maj.** | — | Pneum. | + |
| **1-C** | F | 42 | | | | | PVMq | **Maj.** | — | — | — |
| **1-D** | M | 49 | | | | | **DA**, DAA | + | — | Pneum. | + |
| **1-E** | M | 53 | | | | | **DA**, PVM, IM | **Maj.** | — | — | — |
| **1-F** | M | 19 | | | | | **DisAo tA, DA** | **Maj.** | — | — | + |
| **1-G** | F | 61 | | | | | **DA**, IM | — | na | — | — |
| **Família 2** | | | 56 | T6906A | Cys2302X | cbEGF-like#36 | | | | | |
| **2** | M | 54 | | | | | **DA** | + | na | — | + |
| **2-A** | M | 31 | | | | | **DisAo tA, DAA** | + | na | Pneum. | + |
| **2-B** | M | 29 | | | | | **DA** | + | na | — | — |
| **2-C** | F | 29 | | | | | **DA, DisAo tA** | + | — | — | — |
| **Família 3** | | | 65 | 8367insA | Asn2789fsX2800 | C-terminal | | | | | |
| **3** | M | 40 | | | | | **DisAo tA** | **Maj.** | — | — | + |
| **3-A** | M | 35 | | | | | **DA** | **Maj.** | na | — | + |
| **3-B** | M | 43 | | | | | **DA** | + | na | — | + |
| **Família 4** | | | — | — | — | — | | | | | |
| **4** | M | 53 | | | | | **DA, DisAo tA,** PVM | + | — | — | + |
| **4-A** | F | 26 | | | | | — | **Maj.** | na | — | + |
| **4-B** | F | 22 | | | | | **DA,** PVM | + | na | — | + |
| **Família 5** | | | 32 | T4037G | Phe1346Cys | cbEGF-like#18 | | | | | |
| **5** | M | 61 | | | | | **DA** | + . | — | — | + |
| **5-A** | F | 31 | | | | | **DA** | **Maj.** | — | — | + |
| **5-B** | F | 27 | | | | | **DA, PVM** | + | **Maj.** | Pneum. | — |
| **Restantes casos índex** | | | | | | | | | | | |
| **6*** | M | 44 | 24 | G3043C | Ala1015Pro | TGFβ-like#3 | **DisAo tA, DA,** RA | + | na | — | — |
| **7*** | M | 24 | 29 | G3676T | Gly1226X | cbEGF-like#15 | **DA,** PVM | **Maj.** | **Maj.** | — | + |
| **8** | M | 37 | 51 | T6331C | Cys2111Arg | TGFβ-like#6 | **DA** | + | **Maj.** | — | — |
| **9** | F | 27 | 45 | 5582insG | Ser1861fsX1867 | cbEGF-like#27 | **DA,** PVM | **Maj.** | na | — | — |
| **10** | M | 56 | 36 | G4472T | Cys1491Phe | cbEGF-like#22 | **DA** | **Maj.** | na | — | + |
| **11** | F | 30 | — | — | — | — | **DA,** PVM, IM | **Maj.** | — | — | + |
| **12** | F | 25 | 6 | 572insTCCCTGG | Ser190fsX224 | Hybrid motif# 1 | **DA,** PVM | **Maj.** | **Maj.** | — | — |
| | | | 46 | A5776G | Asn1926Asp | cbEGF-like#28 | | | | | |
| **13** | M | 21 | 21 | C2581T | Arg861X | Hybrid motif# 2 | PVM | **Maj.** | — | — | + |
| **14** | M | 45 | — | — | — | — | **DA,** PVM, RA | **Maj.** | — | — | — |

Legenda: —, sistema não envolvido; + sistema envolvido; ADN, Ácido Desoxirribonucleico; DA, Dilatação Aórtica; DAA, Dilatação Aorta Abdominal; DisAo, Dissecção Aórtica (DisAo ta - tipo A, DissAo tB - tipo B); F, Feminino; IM, Insuficiência Mitral; M, Masculino; Maj, Critérios *Major*; na, não aplicável; Pneum., Pneumotórax; PVM, Prolapso Válvula Mitral; RA, Regurgitação Aórtica. Notas: critérios *major* aparecem em negrito; *, doentes com história familiar de SM.

## Conclusões

No nosso trabalho destacámos a necessidade da constituição de equipas multidisciplinares para o seguimento dos doentes com SM e respectivos familiares.

Ao descrever 10 novas mutações, ampliámos o espectro de variantes do gene da FBN1 associadas à SM.

Uma melhor compreensão da etiopatogenia desta síndrome, que inclui a realização do diagnóstico molecular, poderá vir a permitir a identificação de novos marcadores de prognóstico e eventualmente possibilitar o reconhecimento precoce de candidatos a futuras intervenções terapêuticas.

## Fontes de financiamento

O presente trabalho foi financiado por uma Bolsa do Centro de Investigação do Hospital de S. João, Porto, Portugal.

## Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses

## Bibliografia

1. De Paepe A, Devereux RB, Dietz HC, et al. Revised diagnostic criteria for the Marfan syndrome. Am J Med Genet. 1996;62: 417-26.
2. Beroud C, Collod-Beroud G, Boileau C, et al. UMD (Universal mutation database): a generic software to build and analyze locus-specific databases. Hum Mutat. 2000;15:86-94.
3. Robinson PN, Booms P, Katzke S, et al. Mutations of FBN1 and genotype-phenotype correlations in Marfan syndrome and related fibrillinopathies. Hum Mutat. 2002;20:153-61.
4. Judge DP, Dietz HC. Marfan's syndrome. Lancet. 2005;366: 1965-76.
5. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, et al. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. J Am Soc Echocardiogr. 2005;18:1440-63.
6. Roman MJ, Devereux RB, Kramer-Fox R, et al. Two-dimensional echocardiographic aortic root dimensions in normal children and adults. Am J Cardiol. 1989;64:507-12.
7. Hubbard TJ, Aken BL, Ayling S, et al. Ensembl 2009. Nucleic Acids Res. 2009 Jan;37(Database issue):D690-7.
8. Ramensky V, Bork P, Sunyaev S. Human non-synonymous SNPs: server and survey. Nucleic Acids Res. 2002;30:3894-900.
9. Schrijver I, Liu W, Odom R, et al. Premature termination mutations in FBN1: distinct effects on differential allelic expression and on protein and clinical phenotypes. Am J Hum Genet. 2002;71:223-37.
10. Matyas G, Alonso S, Patrignani A, et al. Large genomic fibrillin-1 (FBN1) gene deletions provide evidence for true haploinsufficiency in Marfan syndrome. Hum Genet. 2007; 122:23-32.
11. Mizuguchi T, Matsumoto N. Recent progress in genetics of Marfan syndrome and Marfan-associated disorders. J Hum Genet. 2007;52:1-12.
12. Faivre L, Collod-Beroud G, Loeys BL, et al. Effect of mutation type and location on clinical outcome in 1,013 probands with Marfan syndrome or related phenotypes and FBN1 mutations: an international study. Am J Hum Genet. 2007;81:454-66.
13. Robinson PN, Booms P. The molecular pathogenesis of the Marfan syndrome. Cell Mol Life Sci. 2001;58:1698-707.
14. Dietz HC, McIntosh I, Sakai LY, 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.
15. Waldmuller S, Muller M, Warnecke H, et al. Genetic testing in patients with aortic aneurysms/dissections: a novel genotype/phenotype correlation? Eur J Cardiothorac Surg. 2007;31:970-5.
16. Van Dijk FS, Hamel BC, Hilhorst-Hofstee Yet al. Compound-heterozygous Marfan syndrome. Eur J Med Genet. 2009;52:1-5.
17. Karttunen L, Raghunath M, Lonnqvist L, et al. A compound-heterozygous Marfan patient: two defective fibrillin alleles result in a lethal phenotype. Am J Hum Genet. 1994;55: 1083-91.
18. Comeglio P, Johnson P, Arno G, et al. The importance of mutation detection in Marfan syndrome and Marfan-related disorders: report of 193 FBN1 mutations. Hum Mutat. 2007;28:928.