

# Marfanov sindrom - autosomalno dominantna nasljedna bolest

---

Popović, Ana

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, Faculty of Science / Sveučilište u Splitu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:166:534833>

*Rights / Prava:* [Attribution 4.0 International](#)/[Imenovanje 4.0 međunarodna](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-29**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Science](#)



Sveučilište u Splitu

Prirodoslovno-matematički fakultet

Odjel za biologiju

Završni rad

**MARFANOV SINDROM- AUTOSOMALNO  
DOMINANTNA NASLJEDNA BOLEST**

Ana Popović

Split, 2023.

Ovaj rad, izrađen u sklopu kurikuluma studijskog programa Biologija, pod vodstvom doc. dr. sc. Željane Fredotović predan je na ocjenu Odjelu za biologiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Splitu radi stjecanja zvanja prvostupnice biologije (*univ. bacc. biol.*)

## Temeljna dokumentacijska kartica

Završni rad

Sveučilište u Splitu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Odjel za biologiju  
Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Hrvatska

### MARFANOV SINDROM- AUTOSOMALNO DOMINANTNA NASLJEDNA BOLEST

Ana Popović

#### SAŽETAK

Marfanov sindrom je rijetka autosomalno dominantna nasljedna bolest vezivnog tkiva koja najčešće pogađa kardiovaskularni, očni i skeletni sustav. Najveći broj slučajeva uzrokovan je mutacijama u genu *FBNI* koji kodira glikoprotein fibrilin 1 (FBN1) koji sudjeluje u formiranju mikrofibrila. Osim gena *FBNI*, dokazano je da postoje i drugi geni koji pridonose razvoju Marfanovog sindroma kao što su *FBN2*, *TGFBR1*, *TGFBR2* te *LTBP*. Mutacije se mogu pojaviti u bilo kojem dijelu ljudskog genoma, te se za pravilno dijagnosticiranje promjena koriste metode poput sekvenciranja cijelog genoma (WGS), sekvenciranja cijelog egzoma (WES), ciljanog sekvenciranja genoma (TGS) te metoda višestrukog umnožavanja vezanih sonda (MLPA). Lijek za sindrom još uvijek ne postoji, pa se liječenje svodi na tretiranje i ublažavanje postojećih simptoma. Genska terapija mogla bi biti novi put u liječenju sindroma, ali su potrebne daljnje studije kako bi se poboljšao prijenos gena.

**Ključne riječi:** Marfanov sindrom, gen *FBNI*, glikoprotein fibrilin 1, genska terapija

Rad je pohranjen u knjižnici Prirodoslovno-matematičkog fakulteta, Sveučilišta u Splitu

**Rad sadrži:** 15 stranica, 2 slike, 15 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

**Mentor:** izv. prof. dr. sc. Željana Fredotović

**Ocjenjivači:** izv. prof. dr. sc. Željana Fredotović

izv. prof. dr. sc. Sanja Puljas

izv. prof. dr. sc. Elma Vuko

**Rad prihvaćen:** rujan 2023.

## Basic documentation card

Thesis

University of Split  
Faculty of Science  
Department of Biology  
Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Croatia

### MARFAN SYNDROME- AUTOSOMAL-DOMINANT DISEASE

Ana Popović

#### ABSTRACT

Marfan syndrome is a rare, autosomal-dominant inherited connective tissue disorder that most commonly affects the cardiovascular, ocular, and skeletal systems. Most cases are caused by mutations in the *FBNI* gene, which encodes the glycoprotein fibrillin 1 (FBN1) and is involved in the formation of microfibrils. In addition to the *FBNI* gene, there are other genes that have been shown to contribute to the development of Marfan syndrome: *FBN2*, *TGFBR1*, *TGFBR2*, and *LTBP*. Mutations can occur in any part of the human genome, and methods such as whole genome sequencing (WGS), whole exome sequencing (WES), targeted genome sequencing (TGS), and multiplexed probe amplification (MLPA) are used to correctly diagnose alterations. There is still no cure for the syndrome, so treatment is limited to treating and alleviating existing symptoms. Gene therapy could be a new way to treat the syndrome, but further studies are needed to improve gene transfer.

**Key words:** Marfan syndrome, gene *FBNI*, glycoprotein fibrillin 1, gene therapy

Thesis deposited in library of Faculty of science, University of Split

**Thesis consists of:** 15 pages, 2 pictures, 15 references. Original language: Croatian

**Supervisor:** Željana Fredotović, *Ph.D. Associate Professor of Faculty of Science, University of Split*

**Reviewers:** Željana Fredotović, *Ph.D. Associate Professor of Faculty of Science, University of Split*

**Sanja Puljas,** *Ph.D. Associate Professor of Faculty of Science, University of Split*

**Elma Vuko,** *Ph.D. Associate Professor of Faculty of Science, University of Split*

**Thesis accepted:** September, 2023.

# IZJAVA

kojom izjavljujem s punom materijalnom i moralnom odgovornošću da sam završni rad s naslovom MARFANOV SINDROM- AUTOSOMALNO DOMINANTNA NASLJEDNA BOLEST izradila samostalno pod voditeljstvom doc. dr. sc. Željane Fredotović. U radu sam primijenila metodologiju znanstvenoistraživačkog rada i koristila literaturu koja je navedena na kraju završnog rada. Tuđe spoznaje, stavove, zaključke, teorije i zakonitosti koje sam izravno ili parafrazirajući navela u završnom radu na uobičajen, standardan način citirala sam i povezala s fusnotama s korištenim bibliografskim jedinicama. Rad je pisan u duhu hrvatskog jezika.

Studentica

Ana Popović

## Sadržaj

|  |    |
|--|----|
| 1. UVOD .....  | 1  |
| 2. RAZRADA TEME.....   | 2  |
| 2.1. MARFANOV SINDROM.....                                       | 2  |
| 2.1.1. OBILJEŽJA SINDROMA .....                                  | 3  |
| 2.1.1.1. Kardiovaskularni sustav .....                           | 3  |
| 2.1.1.2. Očni sustav .....                                       | 3  |
| 2.1.1.3. Skeletni sustav .....                                   | 3  |
| 2.2. GENI POVEZANI SA MARFANOVIM SINDROMOM .....                 | 4  |
| 2.2.1. <i>FBN1</i> .....   | 4  |
| 2.2.2. <i>FBN2</i> .....   | 5  |
| 2.2.3. <i>TGFBR1</i> .....                                       | 6  |
| 2.2.4. <i>TGFBR2</i> .....                                       | 6  |
| 2.2.5. <i>LTBP</i> .....   | 6  |
| 2.2.6. TGF- $\beta$ SIGNALIZACIJA .....                          | 7  |
| 2.3. IDENTIFIKACIJA GENA POVEZANIH SA MARFANOVIM SINDROMOM ..... | 9  |
| 2.4. LIJEČENJE SINDROMA .....                                    | 11 |
| 3. ZAKLJUČAK .....   | 13 |
| 4. LITERATURA .....  | 14 |

## 1. UVOD

Marfanov sindrom je autosomalno dominantna bolest s procijenjenom učestalošću od 1 na 5000 osoba. U većini slučajeva uzrokuju ga mutacije u genu *FBNI* koji kodira glikoprotein fibrilin 1 koji je glavna sastavnica mikrofibrila. Sindrom je rijedak, ali je istovremeno jedna od najčešćih bolesti vezivnog tkiva te jednako pogađa muškarce i žene. Razvoj sindroma može utjecati na različite dijelove tijela, a najčešće pogađa srce, krvne žile, oči i zglobove. Očiti znakovi postojanja sindroma su iznadprosječna visina, arahnodaktilija, savitljivi zglobovi, kratkovidnost te zakrivljena kralježnica. Višestruki geni, među kojima su *FBNI*, *FBN2*, *TGFBR1* i *TGFBR2*, pridonose razvoju Marfanovog sindroma i srodnih bolesti. Transformirajući čimbenik rasta-beta (TGF- $\beta$ ) igra ključnu ulogu u razvoju i održavanju različitih organa. Zbog toga, mutacije u genima povezanim sa signalnim putem TGF- $\beta$  uzrokuju nasljedne poremećaje vezivnog tkiva kao što je Marfanov sindrom. Određivanje promjena u redosljedu nukleotida u DNA je često presudno za pravilno dijagnosticiranje genetske bolesti, a za pronalaženje grešaka koriste se različite metode sekvenciranja genoma.



## 2. RAZRADA TEME

### 2.1. MARFANOV SINDROM

Marfanov sindrom (MFS) je komplicirani genetski poremećaj vezivnog tkiva kojega karakterizira abnormalnost u očnom, kardiovaskularnom i koštanom sustavu. Blagi slučajevi mogu imati samo izolirane karakteristike sindroma, dok teži slučajevi imaju brzo progresivne lezije koje zahvaćaju više sustava tijekom neonatalnog razdoblja i mogu podleći bolesti unutar 2 godine nakon rođenja. Klinički podaci pokazuju da je Marfanov sindrom autosomalno dominantna bolest, iako postoji nekoliko slučajeva obitelji s prijavljenim modelom autosomalno recesivnog nasljeđivanja. Osnovni biomolekularni poremećaj nastaje zbog mutacija gena *FBNI* koji kodira glikoprotein fibrilin 1 koji je glavna sastavnica mikrofibrila. MFS pogađa 1 od 5000 osoba u općoj populaciji te se uz pravilno liječenje životni vijek produžio na gotovo 72 godine. Sindrom je rijedak, ali je istovremeno jedna od najčešćih bolesti vezivnog tkiva te jednako pogađa i muškarce i žene. Simptomi u ranoj fazi nisu vidljivi te se s godinama počinju pogoršavati i utjecati na kvalitetu života. Rana dijagnoza sindroma korisna je u prevenciji kardiovaskularnih simptoma čime se poboljšava kvaliteta života pacijenata i produžuje njihov životni vijek (Du i sur., 2021).

### 2.1.1. OBILJEŽJA SINDROMA

Marfanov sindrom može utjecati na različite dijelove tijela, a najčešće pogađa srce, krvne žile, oči i zglobove. Kod nekih osoba simptomi su prisutni već pri rođenju, a kod nekih nisu odmah vidljivi u ranoj fazi. Ozbiljna obilježja kao što je povećana aorta, mogu biti opasna po život. Najčešći znakovi sindroma su iznadprosječna visina, vitkost, arahnodaktilija, savitljivi zglobovi, deformacija sternuma, kratkovidnost te zakrivljena kralježnica. MFS ima ozbiljne učinke na kardiovaskularni, očni i skeletni sustav (Du i sur., 2021).

#### 2.1.1.1. Kardiovaskularni sustav

Kod bolesnika s Marfanovim sindromom su česte promjene na kardiovaskularnom sustavu. Tipična klinička manifestacija je dilatacija korijena aorte, a atrioventrikularni zalisci su najvjerojatnije zahvaćena tkiva (Du i sur., 2021). Ako se aorta postupno proširi, aortin zalistak može početi popuštati. Širenje aorte se javlja kod 50% djece i 60 do 80% odraslih. Problemi se javljaju i kod mitralnog zalistka koji također može početi popuštati ili se izbočiti unatrag u lijevu pretkljetku. Abnormalni srčani zalisci mogu razviti ozbiljne infekcije te takve anomalije srčanog zalistka mogu narušiti sposobnost srca da isporučuje krv što rezultira fatalnim posljedicama (Coelho i Almeida, 2020).

#### 2.1.1.2. Očni sustav

Još jedna manifestacija Marfanovog sindroma je očni defekt koji može prethoditi simptomima kardiovaskularnog sustava. 50 do 80% bolesnika sa sindromom pokazuje *ectopia lentis* (EL). EL je dislokacija ili pomak prirodne kristalne leće iz svoga uobičajenog položaja, u središtu oka. Obilježja EL su smanjena vidna oštrina, ravnija rožnica, astigmatizam te niži intraokularni tlak. Smatra se da je povećana učestalost EL s Marfanovim sindromom posljedica mutacije gena *FBNI* što uzrokuje promjenu fibrilinskih mikrofibrila, a to dovodi do djelomičnog ili potpunog pomicanja leće. Očne komplikacije MFS-a uključuju kataraktu, miopiju, glaukom, spljoštenost rožnice i odvajanje mrežnice (Zech i sur., 2020). Učestalost EL varira od 63-75% za djecu u dobi <10 godina, do 15-57% za djecu u dobi <17 godina. Zbog svega navedenog potrebno je provesti oftalmološko testiranje tijekom djetinjstva da bi se na vrijeme spriječilo pojavu defekata očnog sustava.

#### 2.1.1.3. Skeletni sustav

Pacijenti s Marfanovim sindromom su obično visoki i imaju neproporcionalno duge, tanke udove. Distalne kosti udova pokazuju prekomjernu duljinu što rezultira dugim rukama i

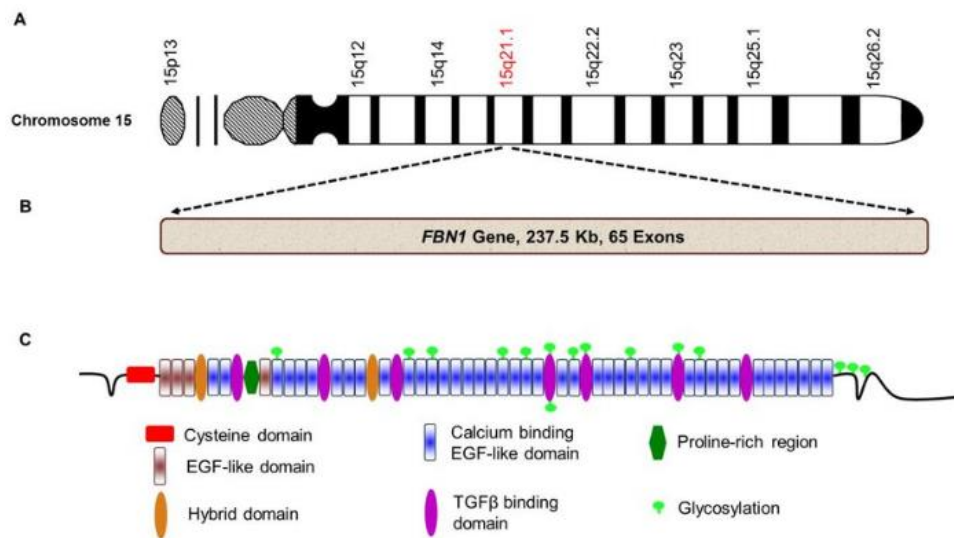
stopalima, s prstima poput pauka, stanje poznato kao arahnodaktilija. Skolioza pogađa oko 60% pacijenata s Marfanovim sindromom i može doći do brze progresije tijekom ubrzanog rasta što dovodi do izraženog deformiteta. U odraslih bolesnika bolovi u leđima uzrokovani skoliozom su tri puta češći nego u općoj populaciji. Glavne kliničke značajke su dugo lice s istaknutom mandibulom, visoko zasvođeno nepce i deformacija prsnog koša. Prekomjernim uzdužnim rastom rebra nastaju mišićno-koštane abnormalnosti kao što su udubljena prsa (lat. *pectus excavatum*) i izbočena prsa (lat. *pectus carinatum*). Koža izgleda suho i naborano s minimalnim potkožnim masnoćama. Mišićno-koštane abnormalnosti koje se susreću kod Marfanovog sindroma se temelje na prisutnosti mutiranog gena *FBNI* koji u hrskavici dovodi do raznih abnormalnosti. Dolazi do displazije kuka, destrukcije drugih zglobnih tijela te abnormalnosti u zonama nošenja težine (Al Kaissi i sur., 2013).

## 2.2. GENI POVEZANI SA MARFANOVIM SINDROMOM

Marfanov sindrom je autosomalno dominantna bolest te postoji 50% šanse da će osoba sa sindromom prenijeti svoju genetsku mutaciju na dijete. Različiti geni kao što su *FBNI*, *FBN2*, *TGFBR1*, *TGFBR2* te *LTBP*, pridonose razvitku Marfanovog sindroma i srodnih bolesti. Mutacije gena *FBNI* uočene su u 90% slučajeva MFS-a (Coelho i Almeida, 2020).

### 2.2.1. *FBNI*

Fibrilin 1 (*FBNI*) je gen za kodiranje člana obitelji fibrilin proteina. Nalazi se na kromosomu 15, na položaju 21.1 (15q21.1) i sastoji se od 65 egzona (slika 1A i B). Transkribira se u mRNA od 10 Kb koja se zatim prevodi u protein dug 2871 aminokiselinu s velikim brojem cisteinskih ponavljanja (slika 1C). *FBNI* je glikoprotein izvanstaničnog matriksa koji služi kao strukturna komponenta mikrofibrila koji vežu kalcij. Važna je komponenta elastičnih vlakana u elastičnim ili neelastičnim vezivnim tkivima koja osiguravaju potporu nosivim strukturama i skelu za taloženje proteina (Du i sur., 2021). Protein također igra ključnu ulogu u homeostazi tkiva kroz specifične interakcije s čimbenicima rasta i drugim komponentama proteina izvanstaničnog matriksa.



Slika 1 Shematski prikaz gena *FBNI*, njegovog položaja na kromosomu (A i B) 15 te proteina fibrilin 1 (C).

(preuzeto: Matkar i sur., 2015.)

Do danas je prijavljeno ukupno 3077 mutacija *FBNI* u bolesnika s MFS-om, uključujući 2499 točkastih mutacija i 51 velikih preraspodjela. Mutacije uzrokovane supstitucijom jedne aminokiseline (*missense* mutacije) su najčešći tip i čine 53-56% slučajeva, 33-36% skraćenih varijanti, 7-13% intronskih varijanti i 1,8-2,9% velikih genomskih preraspodjela (Yang i sur., 2018). Na genomu nema očitog područja agregacije i periodičnosti, nego se mutacije događaju u gotovo cijelom genomu. Kod bolesnika s Marfanovim sindromom egzonske mutacije se mogu naći u većini egzonskih regija. Egzoni 45 i 57 su nedovoljno zastupljeni, a 13, 26, 27, 28 i 43 su previše zastupljeni. Pacijenti sa skraćenim varijantama *FBNI* su imali veći udio problema s aortom, u usporedbi s pacijentima s *missense* mutacijama koji su imali druge blaže simptome (Du i sur., 2021).

### 2.2.2. *FBN2*

Gen *FBN2* se nalazi na kromosomu 5, na položaju 23.3 (5q23.3). Kodira protein *FBN2* koji je sastavni dio mikrofibrila vezivnog tkiva, sastavljenih u elastična vlakna. Razlika između *FBN1* i *FBN2* proteina je ta što *FBN1* prvenstveno održava funkciju elastičnih struktura, a *FBN2* sudjeluje u stvaranju struktura elastičnih vlakana. Gen za fibrilin 2 visoko je homologan *FBN1*, a pokazalo se da mutacije u *FBN2* uzrokuju fenotipski povezan poremećaj koji se naziva kongenitalna kontraktura arahnodaktilija (Robinson i Godfrey, 2000). Arahnodaktilija može biti rezultat nove mutacije na genu *FBN2* ili može biti naslijeđena od roditelja u autosomno dominantnom obrascu. Većina mutacija na genima su *missense*

mutacije koje ometaju jednu od brojnih domena proteina te se javljaju i pogreške spajanja egzona koje su češće kod gena *FBN2* nego kod *FBN1*.

### 2.2.3. *TGFBR1*

Gen *TGFBR1* je smješten na kromosomu 9 (9q22.33) i sastoji se od 9 egzona te kodira protein koji se naziva receptor transformirajućeg faktora rasta beta tipa 1. Receptor prenosi signale s površine stanice u stanicu kroz proces koji se naziva transdukcija signala. Receptorski kompleks pokreće različite reakcije stanice, uključujući rast i diobu stanica te može suzbiti nekontrolirani rast i dijeljenje stanica. Još uvijek nije potvrđeno da mutacije u genu imaju veliku ulogu u nastanku sindroma, ali *TGFBR1* i *TGFBR2* kao jedni od ključnih gena kod bolesnika s Marfanovim sindromom igraju ulogu u moduliranju ozbiljnih kardiovaskularnih manifestacija (Du i sur., 2021).

### 2.2.4. *TGFBR2*

Transformirajući faktor rasta beta receptor 2 (*TGFBR2*) nalazi se na kromosomu 3 (3p24.1). Mapiranjem drugog lokusa za MFS na 3p24.2-p25, identificirana je prijelomna točka 3p24.1 koja prekida gen *TGFBR2* kod pacijenta s MFS-om što je dovelo do toga da se *TGFBR2* smatra genom MFS. Protein kodiran ovim genom je transmembranski protein koji ima domenu protein kinaze, tvori heterodimerni kompleks s TGF- $\beta$  receptorom tip 1 i veže TGF- $\beta$ . Ovaj kompleks fosforilira proteine koji ulaze u jezgru i reguliraju transkripciju gena povezanih sa staničnom proliferacijom, zaustavljanjem staničnog ciklusa i tumorigenezom. Mutacije na genu koje uzrokuju Marfanov sindrom mogu poremetiti strukturu *TGFBR2* s izloženom površinskom domenom i neizravno promijeniti promet *TGFBR1* proteina (Du i sur., 2021). Mutacije *TGFBR2* locirane na F-heliksu u kinaznoj domeni mogu biti povezane s teškim kardiovaskularnim i skeletnim simptomima, ali bez većih očnih simptoma.

### 2.2.5. *LTBP*

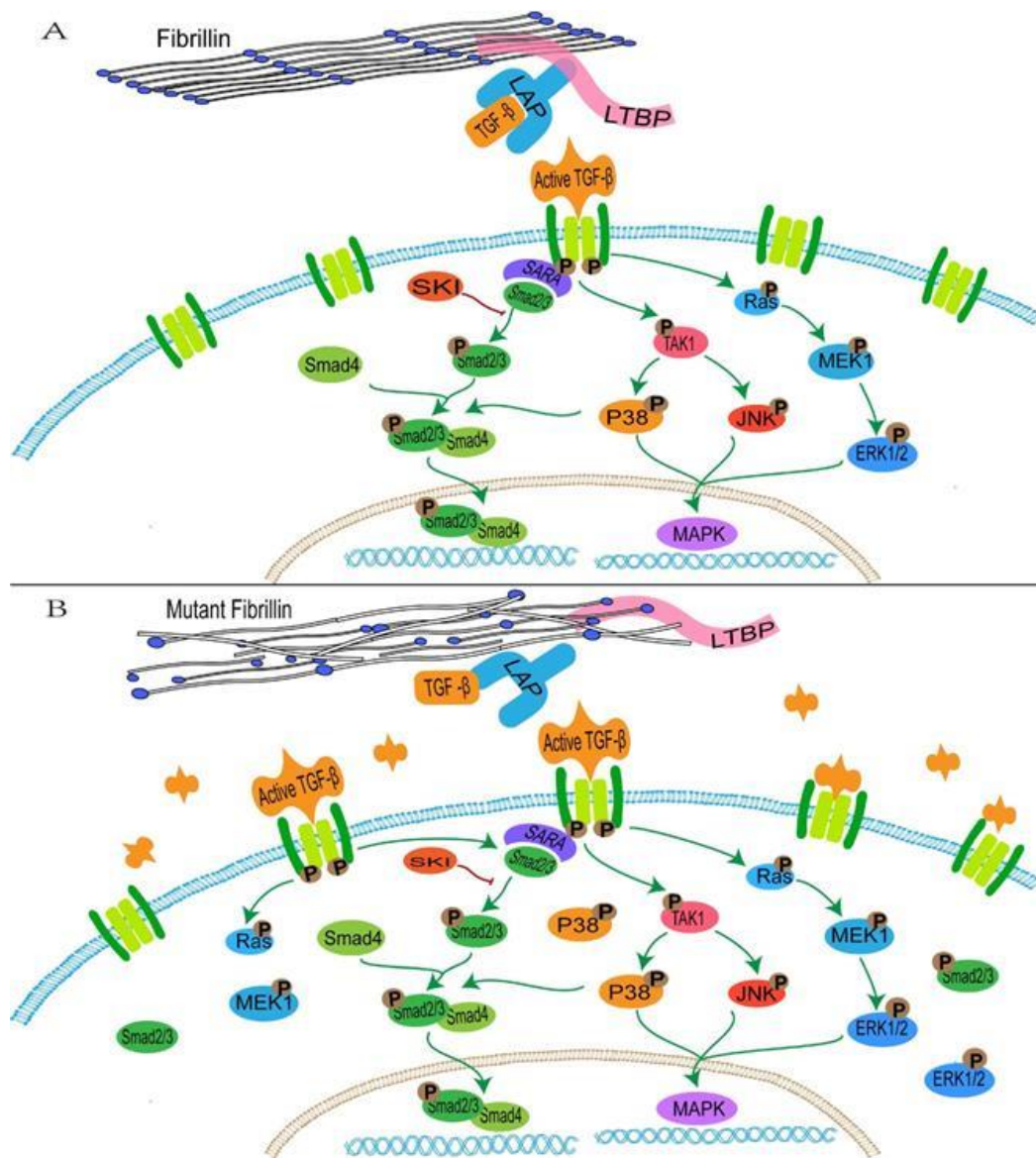
Latentni transformirajući faktor rasta-beta vezujući protein geni (*LTBP*) su strukturno srodni fibrilinima. Identificirana su četiri gena *LTBP* od kojih svi sadrže višestruke tandemske kopije cbEGF motiva i osam cisteinskih ponavljanja. *LTBP-1* je karakteriziran kao regulator metabolizma transformirajućeg faktora rasta-beta (TGF- $\beta$ ) te povećava njegovo izlučivanje iz stanica. Isto tako može sudjelovati u aktivaciji latentnog TGF- $\beta$  koncentrirajući ga na površini stanice gdje dolazi do aktivacije. *LTBP-2* također regulira aktivnost TGF- $\beta$  signalizacije. Mutacije u genu mogu pridonijeti sustavnom fenotipu sindroma povezanih s abnormalnošću

gena koji su povezani s TGF- $\beta$  putem. Proteini LTBP-3 i LTBP-4 su podvrgnuti povezivanju s izvanstaničnim matriksom. Mnogi od ovih mikrofibrilarnih elemenata lokaliziraju se na mikrofibrile koje sadrže fibrilin. Zbog navedenog se *LTBP* geni mogu smatrati genima kandidatima za mnoge poremećaje pa tako i za Marfanov sindrom (Robinson i Godfrey, 2000).

#### 2.2.6. TGF- $\beta$ SIGNALIZACIJA

Transformirajući čimbenik rasta-beta (TGF- $\beta$ ) igra ključnu ulogu u razvoju i održavanju različitih organa. Zbog toga, mutacije u genima povezanim s signalnim putem TGF- $\beta$  uzrokuju nasljedne poremećaje vezivnog tkiva kao što je Marfanov sindrom i njemu slični sindromi. Fibrilin 1 i mikrofibrili reguliraju bioraspoloživost i lokalnu aktivnost TGF- $\beta$ . Upalni proteolitički enzimi kao što je elastaza ili određeni fiziološki podražaji, dovode do razgradnje mikrofibrila što omogućuje oslobađanje aktivnog TGF- $\beta$  koji djeluje kao središnji regulator patofiziološkog odgovora. Smanjeni ili abnormalni fibrilin 1 dovodi do neuspješnog zaustavljanja TGF- $\beta$  što rezultira prekomjernom aktivnošću TGF- $\beta$  signalnih kaskada koje igraju ključnu ulogu u patogenezi Marfanova sindroma (Takeda i sur., 2018). Kod bolesnika sa sindromom, ukupne razine TGF- $\beta$  u plazmi su povišene te se trenutno za liječenje koriste beta-blokatori koji smanjuju koncentracije u plazmi.

FBN1 regulira koncentraciju aktiviranog TGF- $\beta$  u matriksu kroz vezanje s kompleksom koji se sastoji od LAP, LTBP i TGF- $\beta$  (slika 2A). Abnormalnosti FBN1 dovode do neravnoteže u aktivaciji i prijenosu signala TGF- $\beta$ . Povećava se koncentracija u izvanstaničnom matriksu i pojačava se signal puta TGF- $\beta$  (slika 2B).



Slika 2 Prikaz signalnog puta TGF- $\beta$  reguliranog preko normalnog fibrilina-1 povezanog s kompleksom (A) te prekomjerne aktivnosti TGF- $\beta$  zbog mutiranog fibrilina-1 (B)

(Preuzeto: Du i sur., 2021.)

### 2.3. IDENTIFIKACIJA GENA POVEZANIH SA MARFANOVIM SINDROMOM

Ljudski genom ima približno 3 milijarde parova baza, od kojih se oko 1 do 5% prevodi u značajne proteine. Mutacije ili varijante s izravnim fenotipskim posljedicama mogu se pojaviti u bilo kojem dijelu ljudskog genoma te je određivanje promjena u redosljedu nukleotida u DNA često presudno za pravilno dijagnosticiranje genetske bolesti. Za pronalaženje grešaka u genomu koriste se razne metode kao što su sekvenciranje cijelog genoma (WGS), sekvenciranje cijelog egzoma (WES), ciljano sekvenciranje genoma (TGS) te metoda višestrukog umnožavanja vezanih sonda (MLPA).

Sekvenciranje cijelog genoma (WGS) koristi se za određivanje redosljeda nukleotida prisutnih u DNA. Pokriva cijeli ljudski genom, uključujući mitohondrijske, kodirajuće i nekodirajuće dijelove. Omogućuje ispitivanje regulatornih područja kao što su indeli, strukturne varijacije, varijacije broja kopija i varijacije pojedinačnih nukleotida. Ne postoji ograničenje veličine čitanja za WGS tako da može čitati duge nizove u jednom potezu (Meienberg i sur., 2016). Pomoću WGS-a pronađena je delecija u genu *FBNI* kod pacijenata s Marfanovim sindromom koja je dodatno potvrđena MLPA-om i Sangerovim sekvenciranjem.

Sekvenciranje cijelog egzoma (WES) je učinkovit i sveobuhvatan genetski test koji brzo identificira promjene u DNA. Lako se sekvencira više uzoraka, ali je manje pouzdan jer izostavlja regije. Koristi se za sekvenciranje svih proteinskih regija genoma. Sekvenciranje je usmjereno na egzome te tako očitava manje od 2% genoma. Manje regije sekvenciranja znače manje troškove skladištenja i analize. Ovom tehnikom mogu se otkriti nove mutacije povezane s bolešću i potencijalne mutacije koje uzrokuju bolest. Može poboljšati stopu otkrivanja prenatalnih genetskih abnormalnosti i može pružiti više informacija o medicinskom predviđanju na temelju toga događa li se mutacija u važnom funkcionalnom području gena (Du i sur., 2021). Istraživanje patogenih varijanti kod 10 tajvanskih pacijenata s MFS-om i jednog zdravog subjekta, identificirane su biološke funkcije gena kandidata za MFS. Među svim genima kandidatima za MFS koji su identificirani, *TTN* i *POMTI* smatraju se najvažnijima. Gen *TTN* se uglavnom izražava u srcu i mišićima te je odgovoran za kodiranje sarkomera. *POMTI* se smatra važnom metom jer je jedna od njegovih varijanti (rs146869947) primijećena u 75% članova obitelji MFS. Većina patogenih varijanti gena povezanih s MFS ipak se nalazila na genu *FBNI*. Utvrđeno je da osam od deset pacijenata nosi barem jednu varijantu *FBNI*, a nijedna od tih varijanti nije pronađena u zdravog ispitanika. (Lin i sur.,



2022). WES se pokazao boljim ako su potrebni brzi rezultati, ali je WGS pouzdaniji i točniji te je zato i skuplja metoda koja zahtijeva i više prostora za pohranu.

Ciljano sekvenciranje genoma (TGS) je tehnika kojom se sekvenciraju ključni geni ili regije od interesa, omogućujući identifikaciju rijetkih varijanti. Ploče ciljanog sekvenciranja gena su korisni alat za analizu specifičnih mutacija u danom uzorku. Dizajnirane ploče sadrže odabrani skup gena ili genskih regija za koje se zna ili sumnja da su povezane s bolešću ili fenotipom koji se proučava. Prednosti TGS-a je što daje točne rezultate jednostavne za tumačenje, identificirajući varijante s niskim učestalostima alela. Omogućuje pouzdanu identifikaciju uzročnih novih ili naslijeđenih mutacija u jednom testu. Ciljano sekvenciranje gena na temelju panela korišteno je za analizu gena *FBNI*, *TGFBR1*, *TGFBR2* u 123 Kineza s MFS-om. Otkriveno je da je 97 slučajeva imalo barem jednu patogenu mutaciju od kojih je većina bila u genu *FBNI*. Četiri pacijenta su imala mutacije *TGFBR1/2*, a jedan je imao mutaciju gena *SMAD3*. Tri pacijenta su imali dvije *FBNI* mutacije, a svi su pacijenti pokazali klasične MFS fenotipove. Bolesnici s dominantno negativnom *FBNI* mutacijom imali su veću prevalenciju *ectopia lentis*. Pacijenti koji su nosili mutaciju haploinsuficijencije *FBNI* imali su tendenciju disekcije aorte bez *ectopia lentis* (Li i sur., 2019).

Metoda višestrukog umnožavanja vezanih sonda (MLPA) se koristi za otkrivanje delecija ili duplikacija specifičnih gena i prisutnosti abnormalne metilacije DNA. Dio pacijenata s Marfanovim sindromom nosi veliku deleciju u *FBNI* koja se ne može otkriti rutinskim sekvenciranjem zbog čega se sve više koristi MLPA. Istraživanja su otkrila nove velike delecije, uključujući deleciju u genu *FBNI* koja je obuhvaćala egzone 1-5 i deleciju na kromosomu 15 koja je obuhvatila cijeli gen *FBNI* (Yang i sur., 2018). Pacijenti s blagim MFS-om su imali deleciju egzona 6, a klasični MFS je bio povezan s delecijama egzona 1-36 (Li i sur., 2017).

## 2.4. LIJEČENJE SINDROMA

Dijagnoza Marfanova sindroma može biti teška jer se simptomi razlikuju od osobe do osobe. Mnogi imaju malo tipičnih simptoma koji se ne pojavljuju ni u isto vrijeme ni u istom intenzitetu. Većinom se dijagnoza temelji na detaljnom fizičkom pregledu i pažljivoj procjeni medicinske i obiteljske povijesti pojedinca. Najbolje je uraditi genetsko testiranje kako bi se sa sigurnošću potvrdila dijagnoza Marfanova sindroma.

Trenutno ne postoji lijek za Marfanov sindrom, već se liječenje svodi na tretiranje simptoma i ublažavanje daljnjih komplikacija. Treba voditi računa o zdravom načinu života i izbjegavanju aktivnosti koje mogu pogoršati neko od stanja.

Skeletni problemi koji se javljaju kao rezultat Marfanova sindroma mogu uzrokovati bol i nelagodu. Za bolove u zglobovima koriste se pomagala koja podupiru zglobove te je važna i tjelesna aktivnost. Liječenje skolioze ovisi u kojoj je mjeri kralježnica zakrivljena pa se kod značajne zakrivljenosti preporučuje operacija. Marfanov sindrom može uzrokovati ozbiljne probleme sa srcem pa je potrebno raditi godišnji ultrazvuk srca. Ultrazvukom se može vidjeti debljina i struktura aorte i srčanih ventila te je tako omogućeno rano otkrivanje i liječenje mogućih komplikacija. Za liječenje se koriste beta-blokatori koji smanjuju kontraktilnost srčanog mišića i otkucaje srca te se tako usporava i odgađa povećanje aorte. U slučaju povećanja aorte potrebna je operacija koja zamjenjuje dio proširene aorte, ali se mora izvesti prije nego što aorta postane prevelika (web 1).

Problemi s očima povezani s Marfanovim sindromom mogu biti ozbiljni i dovesti do trajnog gubitka vida. Važno je zaštititi oči i ne obavljati aktivnosti vezane uz visoku opterećenost vida. Mogući su i operativni zahvati da bi se riješili problemi s lećom ili mrežnicom. Operacija dislocirane leće kod ovog poremećaja često ima za posljedicu gubitak staklastog tijela. Međutim, postoperativna vidna oštrina je poboljšana u približno 60% očiju. Liječenje *ectopia lentis* u Marfanovu sindromu treba se sastojati od ponovljene korekcije refrakcijskih grešaka sve dok dislokacija ne izazove prekomjerno smanjenje vidne oštrine (Bitterman i Sponseller, 2017).

Genska terapija otvara novi put u liječenju aneurizmi aorte i mogla bi se uspostaviti kao nova opcija liječenja Marfanova sindroma. Jedan veliki izazov predstavlja sustav metode isporuke. Iako se pokazalo da adenovirusi imaju relativno visoku učinkovitost transdukcije u ciljnim stanicama, oni su povezani s kritičnim sigurnosnim problemima zbog povećane upale. Adeno-

pridruženi virusi (AAVs) omogućuju dugotrajnu ekspresiju gena i predstavljaju najbolje proučen vektor za terapijske svrhe. Međutim, stalno ubrizgavanje AAV čestica dovodi do niske učinkovitosti transdukcije u stijenci aorte te dolazi do smanjene imunogenosti što čini još jedan izazov koji sprječava da se strategije temeljene na AAV prevedu u kliničku praksu (Kallenbach i sur., 2022). Genska terapija za Marfanov sindrom ostaje relativno mlado područje te su potrebne daljnje studije kako bi se poboljšao prijenos gena.

### 3. ZAKLJUČAK

Marfanov sindrom je složena genetska bolest vezivnog tkiva koja utječe na više organskih sustava. Najčešće su promjene na kardiovaskularnom, očnom i skeletnom sustavu. Osnovni biomolekularni poremećaj nastaje zbog mutacija gena *FBNI*. Smanjeni ili abnormalni fibrilin 1 dovodi do neuspješnog zaustavljanja TGF- $\beta$  što rezultira prekomjernom aktivnošću TGF- $\beta$  signalnih kaskada koje igraju ključnu ulogu u patogenezi Marfanova sindroma. Simptomi u ranoj fazi nisu vidljivi, ali se s godinama pogoršavaju i utječu na kvalitetu života. Rana dijagnoza korisna je u prevenciji kardiovaskularnih simptoma čime se poboljšava kvaliteta života pacijenata i produžava njihov životni vijek. Mutacije ili varijante s izravnim fenotipskim posljedicama mogu se pojaviti u bilo kojem dijelu ljudskog genoma te je određivanje promjena u redosljedu nukleotida često presudno za pravilno dijagnosticiranje genetske bolesti. Metode koje se koriste za dijagnosticiranje promjena su WGS, WES, TGS te MLPA. Trenutno ne postoji lijek za Marfanov sindrom pa se provodi simptomatsko liječenje radi ublažavanja daljnjih komplikacija.

## 4. LITERATURA

- Al Kaissi, A., Zwettler, E., Ganger, R., Schreiner, S., Klaushofer, K., & Grill, F. (2013). Musculo-skeletal abnormalities in patients with Marfan syndrome. *Clinical medicine insights. Arthritis and musculoskeletal disorders*, 6, 1–9. <https://doi.org/10.4137/CMAMD.S10279>
- Bitterman, A. D., & Sponseller, P. D. (2017). Marfan syndrome: a clinical update. *JAAOS- Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*, 25(9), 603-609. <http://doi.org/10.5435/JAAOS-D-16-0014>
- Coelho, S. G., & Almeida, A. G. (2020). Marfan Syndrome revisited: from genetics to clinical practice. *Revista Portuguesa de Cardiologia (English Edition)*, 39(4), 215-226. <http://doi.org/10.1016/j.repc.2019.09.008>
- Du, Q., Zhang, D., Zhuang, Y., Xia, Q., Wen, T., & Jia, H. (2021). The Molecular Genetics of Marfan Syndrome. *International journal of medical sciences*, 18(13), 2752–2766. <https://doi.org/10.7150/ijms.60685>
- Kallenbach, K., Remes, A., Müller, O. J., Arif, R., Zaradzki, M., & Wagner, A. H. (2022). Translational Medicine: Towards Gene Therapy of Marfan Syndrome. *Journal of clinical medicine*, 11(14), 3934. <https://doi.org/10.3390/jcm11143934>
- Lin, M. R., Chang, C. M., Ting, J., Chang, J. G., Chou, W. H., Huang, K. J., Cheng, G., Chang, H. H., & Chang, W. C. (2022). Application of Whole Exome Sequencing and Functional Annotations to Identify Genetic Variants Associated with Marfan Syndrome. *Journal of personalized medicine*, 12(2), 198. <https://doi.org/10.3390/jpm12020198>
- Li, J., Lu, C., Wu, W., Liu, Y., Wang, R., Si, N., Meng, X., Zhang, S., & Zhang, X. (2019). Application of next-generation sequencing to screen for pathogenic mutations in 123 unrelated Chinese patients with Marfan syndrome or a related disease. *Science China. Life sciences*, 62(12), 1630–1637. <https://doi.org/10.1007/s11427-018-9491-8>
- Li, J., Wu, W., Lu, C., Liu, Y., Wang, R., Si, N., Liu, F., Zhou, J., Zhang, S., & Zhang, X. (2017). Gross deletions in FBN1 results in variable phenotypes of Marfan syndrome. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 474, 54–59. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2017.08.023>

Matkar, Pratiek & Chen, Hao & Leong-Poi, Howard & Singh, Krishna. (2015). Overview of Marfan Syndrome: knowns and unknowns. *Journal of Controversies in Biomedical Research*. 1. <http://doi.org/10.15586/jcbmr.2015.10>.

Meienberg, J., Bruggmann, R., Oexle, K., & Matyas, G. (2016). Clinical sequencing: is WGS the better WES?. *Human genetics*, 135, 359-362. <http://doi.org/10.1007/s00439-015-1631-9>

Robinson, P. N., & Godfrey, M. (2000). The molecular genetics of Marfan syndrome and related microfibrillopathies. *Journal of medical genetics*, 37(1), 9–25. <https://doi.org/10.1136/jmg.37.1.9>

Takeda, N., Hara, H., Fujiwara, T., Kanaya, T., Maemura, S., & Komuro, I. (2018). TGF- $\beta$  Signaling-Related Genes and Thoracic Aortic Aneurysms and Dissections. *International journal of molecular sciences*, 19(7), 2125. <https://doi.org/10.3390/ijms19072125>

Yang, H., Ma, Y., Luo, M., Zhao, K., Zhang, Y., Zhu, G., Sun, X., Luo, F., Wang, L., Shu, C., & Zhou, Z. (2018). Identification of gross deletions in FBN1 gene by MLPA. *Human genomics*, 12(1), 46. <https://doi.org/10.1186/s40246-018-0178-y>

Zech, J. C., Putoux, A., Decullier, E., Fargeton, A. E., Edery, P., Plauchu, H., & Dupuis-Girod, S. (2020). Classifying Ectopia Lentis in Marfan Syndrome into Five Grades of Increasing Severity. *Journal of clinical medicine*, 9(3), 721. <https://doi.org/10.3390/jcm9030721>

Web 1: <https://krenizdravo.dnevnik.hr/zdravlje/bolesti-zdravlje/marfanov-sindrom-uzrok-znakovi-i-lijecenje>