

LIEBE LESERINNEN UND LESER

Nach «Marfan im Wandel», haben wir 2009 «Wendepunkte» gesetzt, denn weniger ist manchmal mehr. Die Bedarfs- und Bedürfnisanalyse bei Betroffenen und ihren Familien, wie auch einigen Fachpersonen, zeigte auf: Medizinisch auf dem Laufenden sein – ein Anspruch der weder bei Betroffenen noch bei Fachpersonen erstaunt, laufen derzeit doch diverse Losartan-Studien in verschiedenen Ländern, und andere Studien greifen neue Zusammenhänge auf, wie z. B. die Frage, ob es zwischen Polyneuropathie und dem Marfan Syndrom Zusammenhänge gibt.

Die heute rund 8'000 bekannten seltenen Erkrankungen betreffen viele Menschen und gewinnen in unserer Gesellschaft zunehmend an Bedeutung, auch wenn die Verantwortlichen in der Gesundheitslandschaft davon noch nicht viel erkennen lassen. Hier soll eine schweizerische Allianz für seltene Erkrankungen, der sich auch die Marfan Stiftung anschließen wird, politisches Sprachrohr werden und die besonderen Bedürfnisse bei seltenen Erkrankungen ins Gesundheitssystem, in die Politik und nicht zuletzt in die Forschung hinein transportieren.

Der erste Schritt zu einem Netzwerk für Experten von Bindegewbserkrankungen wird in diesen Tagen getan: Am 7. Dezember treffen sich einige namhafte Medizinerinnen und Mediziner in Bern zu einem «Kick-off-Meeting», um die nächsten Schritte zu planen.

Am Beginn einer Erbkrankheit steht die Vererbung und betont dadurch die Bedeutung der Genetik. Um es mit dem Zitat, welches Dr. sc. nat. Gábor Mátyás am Marfan-Tag in Aarau verwendet hat, auszudrücken: «Die Zukunft der

Medizin liegt in der Genetik: Es ist immer offensichtlicher, dass sich die Medizin in Prävention, Diagnose und Therapie an der Genetik orientieren muss.»* Andererseits wird auch der Druck auf Betroffene größer, sich damit auseinanderzusetzen, denn: Gibt es noch ein «Recht» auf Nicht-Wissen oder Nicht-Sagen? Solche, wie auch medizinische oder versicherungsrechtliche Fragen, werden uns 2010 beschäftigen.

Im Namen der Stiftung danke ich allen, die 2009 die Stiftung ideell und finanziell unterstützt haben, sehr herzlich und wünsche Ihnen, liebe Leserinnen, liebe Leser, frohe Festtage!

Maëlle I. Pérez,
Geschäftsstelle

*(Prof. Dr. med. Jan Murken, Klinikum der Universität München)

IN DIESER NUMMER

Gendiagnostik	2
Marfan-Tag Aarau	9
Marfan-Tag Signal de Bougy	11
EMSN-Meeting 2009	15
Polyneuropathie & Marfan?	15
Losartan-Studien im Vergleich	16
Dank	17
In Kürze	18
Beratung & Kontakt	20

FORSCHUNG & MEDIZIN

GENDIAGNOSTIK DES MARFAN-SYNDROMS UND VERWANDTER BINDEGEWEBSKRANKHEITEN

Den meisten Betroffenen ist der lange Diagnoseweg bekannt – über eine klinische Diagnose gewinnt früher oder später, zum Beispiel im Kontext der Familienplanung, das Thema Gendiagnostik an Bedeutung. Am Marfan-Tag 09 in Aarau hat Priv.- Doz. Dr. sc. nat. Gábor Mátyás die Gendiagnostik beim Marfan-Syndrom (MFS) und verwandten Bindegewebschwächen in den Mittelpunkt gerückt.

Zusammenfassung des Referats von PD Dr. sc. nat. Gábor Mátyás

CHRONOLOGISCHER RÜCKBLICK DER GENDIAGNOSTIK BEIM MFS

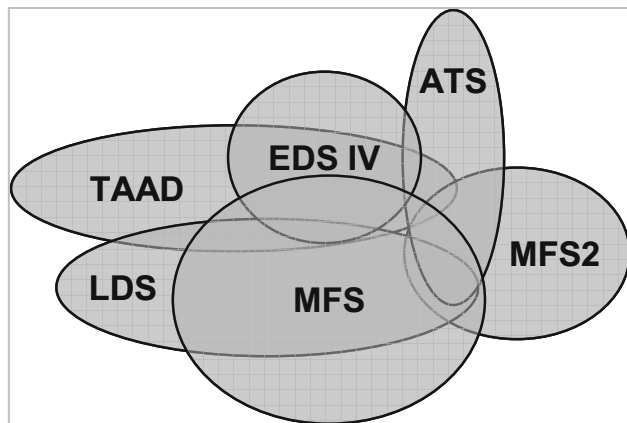
- | | |
|-------------|---|
| • 1896 | Der französische Kinderarzt <i>Antoine Marfan</i> beschreibt einige typische Merkmale des Syndroms |
| • 1930er | Der Erbgang des Syndroms wird erkannt |
| • 1970er | Die klinischen und genetischen Besonderheiten des Syndroms werden beschrieben (<i>Victor A. McKusick</i>) |
| • 1980er | Intensive biochemische Untersuchungen |
| • 1991 | Entdeckung der genetischen Ursache von MFS |
| • 1999-2002 | Etablierung der MFS-Gendiagnostik in der Schweiz |

HERAUSFORDERUNG

An erster Stelle steht bei der Diagnosefindung eines Marfan-Syndroms oder einer verwandten Bindegewebskrankheit die klinische Diagnosestellung über die Haupt- und Nebenmerkmale eines MFS, resp. die Differentialdiagnose. Die Herausforderung in klinischer und genetischer Hinsicht liegt darin, dass beim Marfan-Syndrom ein **variables Symptommuster** auftritt und es einige **ähnliche Syndrome mit Beteiligung der Aorta** gibt. Das Marfan-Syndrom ist näm-

lich Teil eines breiten Spektrums miteinander verwandter Bindegewebskrankheiten, wie MFS2, LDS, TAAD, EDS IV und ATS (siehe Abbildung). Allen gemeinsam ist das stark erhöhte Risiko für lebensbedrohliche Dilatationen und/oder Dissektionen der Aorta. Eine eindeutige klinische Abgrenzung dieser Syndrome ist oft schwierig, und in vielen Fällen können allein molekulargenetische Untersuchungen (Gendiagnostik) eine differenzialdiagnostische Abklärung gewährleisten.

- | | |
|----------------|--|
| MFS: | Marfan-Syndrom
„klassisches MFS“
Mutation im <i>FBN1</i> -Gen |
| MFS2: | Marfan-Syndrom Typ 2
Mutation im <i>TGFBR2</i> -Gen |
| LDS: | Loeys-Dietz-Syndrom
Mutation in <i>TGFBR1</i> oder <i>TGFBR2</i> |
| TAAD: | Thorakale Aneurysmen und Dissektionen der Aorta
Mutation in <i>TGFBR1</i> oder <i>TGFBR2</i> , <i>ACTA2</i> , <i>MYH11</i> , <i>FBN1</i> |
| EDS IV: | Ehlers-Danlos-Syndrom Typ IV
Mutation im <i>COL3A1</i> -Gen |
| ATS: | Arterientortuositätssyndrom
Mutation im <i>SLC2A10</i> -Gen |

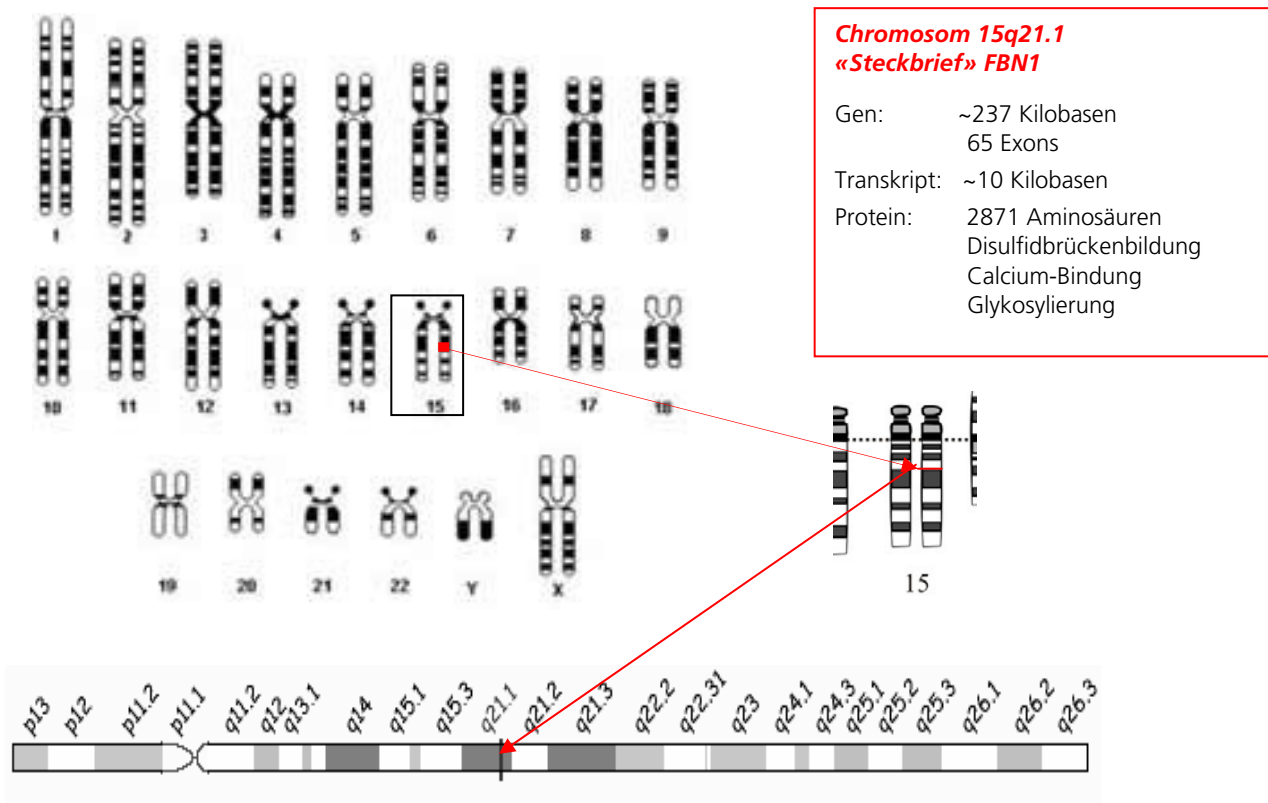


DAS MFS UND SEINE GENETISCHE URSACHE

Allgemein gibt es in der Genetik viele verschiedene Möglichkeiten von Genmutationen, wobei das Erbgut (DNA) auf verschiedene Arten verändert werden kann. Genmutationen haben unterschiedliche Auswirkungen auf die Gesundheit, abhängig davon, welcher Art sie sind, wo sie auftreten und wie sie die Funktionsweise (Qualität und/oder Quantität) von wichtigen Proteinen verändern.

Das klassische MFS wird autosomal dominant vererbt und durch eine Mutation im **FBN1**-Gen

auf **Chromosom 15q21.1** verursacht. Das **FBN1**-Gen kodiert die Aminosäureabfolge des Proteins Fibrillin-1. Dieses Protein ist eine Hauptkomponente der Mikrofibrillen, die eine wichtige Rolle bei der Formation der elastischen Fasern des Bindegewebes spielen. Eine Veränderung im **FBN1**-Gen (z.B. «G» anstatt «T») kann auch eine Veränderung von Fibrillin-1 zur Folge haben (z.B. Glycin anstatt Cystein) und somit auch zu einer strukturellen Veränderung des Bindegewebes führen.

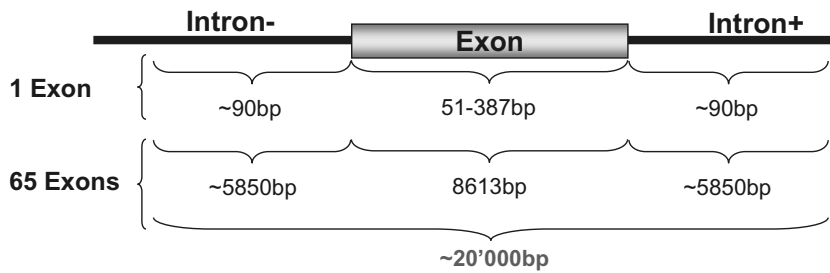


FBN1 – MUTATIONSANALYSE

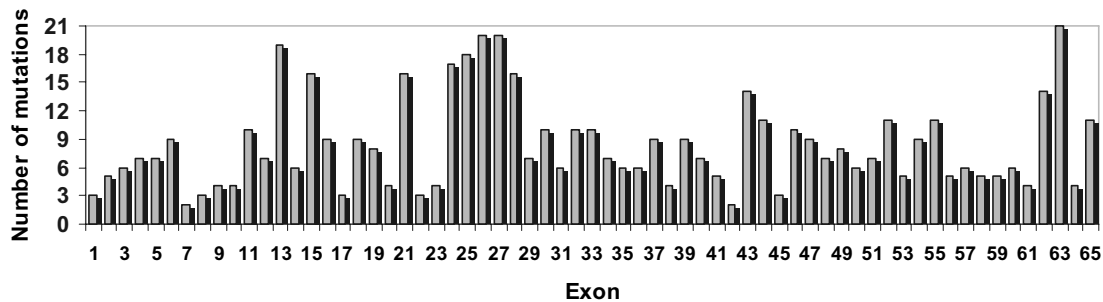
Die **FBN1**-Mutationsanalyse ist erschwert durch die Größe des Gens und die Verteilung des kodierenden Genbereichs auf 65 Exons. Die **FBN1**-Gendiagnostik soll alle 65 Exons und die flankierenden Genbereiche umfassen. Dies bedeutet eine Mutationsanalyse von **~20'000** Basenpaaren. Es gibt heute **~1000** publizierte **FBN1-Mutationen** (~70% Missense/Nonsense, 15% Splice-Mutationen und 15% Deletionen/Insertionen). Bei den bisher festgestellten Mutationen zeigt sich, dass es

- keine Genotyp-Phänotyp-Korrelation gibt (bis auf Mutationen in Exons 24-32 und dem neonatalen MFS)
- keine **FBN1**-Mutation gibt, die besonders häufig vorkäme
- keinen Genbereich gibt, der besonders häufig mutiert wäre

FORSCHUNG & MEDIZIN



Anzahl Mutationen auf allen 65 Exons des *FBN1*-Gens



WIE WIRD DAS *FBN1*-GEN ANALYSIERT?

Zur Mutationsanalyse werden dem Patienten ~3 ml sog. EDTA-Blut abgenommen und zur Untersuchung ins Labor weitergeleitet. Dort wird aus der Blutprobe DNA extrahiert und diese auf Sequenzänderungen im *FBN1*-Gen untersucht. Dazu wird der proteinkodierende Teil des Gens (Exons 1 bis 65) einschliesslich der flankierenden

Intron-Exon Spleissstellen mittels **Polymerasekettenreaktion (PCR)** amplifiziert (vervielfältigt) und anschliessend eine **DNA-Sequenzierung** vorgenommen. Die resultierende DNA-Sequenz wird mit der *FBN1*-Referenzgenesequenz verglichen.

Die **Polymerasekettenreaktion** (englisch Polymerase Chain Reaction, PCR) ist eine Methode, um die Erbsubstanz DNA *in vitro* zu vervielfältigen (amplifizieren). Dazu wird ein Enzym verwendet, die DNA-Polymerase. Der Begriff «Kettenreaktion» beschreibt in diesem Zusammenhang die Tatsache, dass die Produkte vorheriger Zyklen als Ausgangsstoffe für den nächsten Zyklus dienen und somit eine exponentielle Vervielfältigung ermöglichen. Die PCR wird eingesetzt, um einen kurzen, genau definierten Teil eines DNA-Strangs zu vervielfältigen. Dabei kann es sich um ein Gen oder auch nur um einen Teil eines Gens handeln oder auch um nicht-kodierende DNA-Sequenzen.

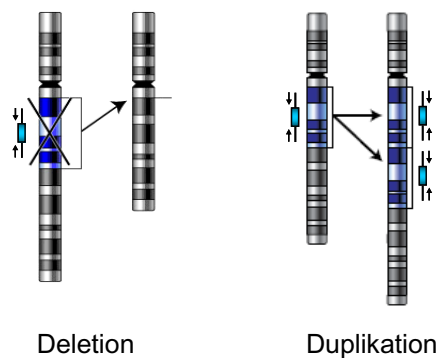
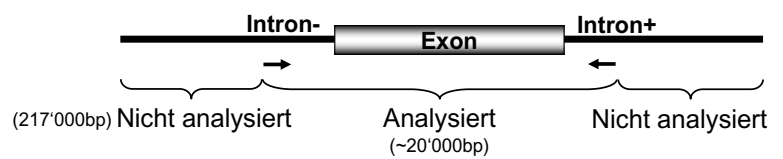
Das Prinzip der **DNA-Sequenzierung** ist ähnlich dem der PCR: Anhand von DNA-Matrizen (hier PCR-Produkte) werden in einer zyklischen, enzymatischen Reaktion DNA-Fragmente erzeugt. Im Gegensatz zur PCR sind in der Sequenzierungsreaktion ausser Nukleotide (dNTPs) auch Dideoxy-Nukleotide (ddNTPs) vorhanden, nach deren Einbau die Strangsynthese abgebrochen wird. Da zu jedem Zeitpunkt der Strangsynthese der Zufall entscheidet, ob ein normales (dNTP) oder ein modifiziertes Nukleotid (ddNTP) eingebaut wird, entstehen insgesamt DNA-Fragmente jeder Länge, die jeweils mit der Primersequenz beginnen und mit einem ddNTP enden. Bei der Sequenzierungsreaktion sind an die ddNTPs entsprechend ihrer verschiedenen Basen vier verschiedene Fluoreszenzfarbstoffe gebunden, die bei Kapillarelektrophorese durch Anregung mit Laserlicht detektiert werden können. Für die Sequenzierung werden normalerweise zwei Reaktionen angesetzt: Sequenzierung des kodierenden Stranges und des Gegenstranges zur Kontrolle.

VERDACHT AUF MFS

Mit dieser Vorgehensweise bei der MFS-Gendiagnostik (exonweise Sequenzierung) findet man oft die krankheitsverursachende Mutation. Es kann aber vorkommen, dass sich dabei kein oder kein eindeutiges Resultat aufzeigen lässt,

selbst dann nicht, wenn ein eindeutiger klinischer Verdacht auf MFS vorliegt. In der Tat kommt es bei Patienten mit Verdacht auf MFS vor, dass nur in ~40-80% der Fälle eine *FBN1*-Mutation entdeckt wird, weil zum Beispiel

- die Mutation in einem **nicht analysierten Genbereich** liegt (Promotor, restliche intronische und nicht-translatierte Genbereiche)
- oder im Falle von grossen **Deletionen** bzw. **Duplikationen/Insertionen**.



DIE BEDEUTUNG VON GROSSEN *FBN1*-DELETIONEN

Infolge einer grossen Deletion kann ein funktionsfähiges Protein nur aus der gesunden *FBN1*-Genkopie (Allel) entstehen. Die Analysen am Institut für Medizinische Genetik (IMG) der Universität Zürich haben erstmals bei Patienten mit MFS gezeigt, dass echte Haploinsuffizienz (vollständiger Funktionsverlust eines *FBN1*-Allels) zum Marfan-Syndrom führen kann. Dabei wurden grosse *FBN1*-Deletionen mit der semi-

quantitativen Methode MLPA (*Multiplex Ligand-dependent Probe Amplification*) detektiert und anschliessend mittels hochauflösender Mikroarrays und DNA-Sequenzierung charakterisiert. Um grosse Deletionen bzw. Duplikationen im *FBN1*-Gen zu erfassen, wird deshalb am IMG bei der Gendiagnostik des Marfan-Syndroms eine MLPA-Analyse zusätzlich zur exonweisen DNA-Sequenzierung routinemässig durchgeführt.

DIE BEDEUTUNG VON ANDEREN GENEN

Die *FBN1*-Mutationsanalyse kann aber nicht nur aufgrund der Grenzen der verwendeten Untersuchungsmethode erfolglos bleiben, sondern auch, weil die krankheitsverursachende Mutati-

on in einem anderen Gen liegt. Wird im *FBN1*-Gen keine Mutation gefunden, gilt es also in der Diagnosefindung die Marfan-ähnlichen Syndrome mit Beteiligung der Aorta zu berücksichtigen

FORSCHUNG & MEDIZIN

und folgende Gene in die Mutationsanalyse mit einzubeziehen: **TGFBR1** (*TGF beta receptor 1*), **TGFBR2** (*TGF beta receptor 2*), **MYH11** (*myosin heavy chain 11*), **ACTA2** (*actin alpha 2*), **COL3A1** (*collagen type III alpha 1*) und **SLC2A10** (*solute carrier family 2, facilitated glucose transporter, member 10*) oder **FBN2** (Fi-

brillin-2), **DCN** (*decorin*) und **EFEMP2** (*EGF-containing fibulin-like extracellular matrix protein 2*).

Die Gendiagnostik des Marfan-Syndroms und verwandter Bindegewebskrankheiten könnte man deshalb mit der Suche nach der Nadel im Heuhaufen vergleichen.

ERFOLGREICHE MUTATIONSANALYSE

Wird in *FBN1* oder in einem der weiteren Gene nun eine Sequenzänderung gefunden, die in den entsprechenden Datenbanken nicht aufgeführt ist, stellt sich zunächst die Frage, ob diese Sequenzänderung pathogen ist, also eine Auswirkung auf die Gesundheit hat. Dies erfolgt mittels

- Analyse der evolutionären Konservierung der mutierten Gensequenz
- In silico Vorhersagen, wobei die Vorhersageprogramme sowohl mit bekannten krankheitsverursachenden Mutationen als auch mit harmlosen Polymorphismen für das betreffende Gen evaluiert werden (Bestimmung von falsch-positiven und falsch-negativen Vorhersagen)
- Mutationsanalyse von entsprechenden Kontrollproben
- In vitro Analysen, funktionelle Assays

- In vivo Analysen in Modellorganismen (z.B. Mausmodell)

Im Weiteren geht es nun darum, ob die pathogene Sequenzänderung (Mutation) den klinischen Phänotyp des Patienten verursacht. Hierzu wird eine Segregationsanalyse in der Familie des Patienten durchgeführt (auch in sporadischen Fällen). Je mehr Familienmitglieder untersucht werden, desto abgesicherter ist die Aussage über die Assoziation zwischen der Mutation und dem klinischen Phänotyp.

Bei bekannten Mutationen, die mit der untersuchten Krankheit assoziiert sind und in den entsprechenden Datenbanken aufgeführt sind, kann man auf die Segregationsanalyse und die aufwändige Abklärung der Pathogenität verzichten. Es ist deshalb wichtig, dass krankheitsverursachende Mutationen, aber auch harmlose Polymorphismen, publiziert werden und so Einzug in die entsprechenden Datenbanken finden.

ERFOLGLOSE MUTATIONSANALYSE

Weitere Analysen (Forschung), um die krankheitsverursachende Mutation zu finden, können sehr lange dauern, bis zu 5-15 Jahren! Dabei ist die Mission des Marfan-Teams am Institut für

Medizinische Genetik, dass sie die krankheitsverursachende Mutation bei allen ihnen zugewiesenen Patienten finden möchten.

DIE BEDEUTUNG DER GENDIAGNOSTIK BEI VERDACHT AUF MFS

Die Kenntnis der krankheitsverursachenden Mutation ermöglicht:

- ➔ Die Abklärung, ob die Krankheit vererbt wurde (auch präsymptomatisch und pränatal) oder
- ➔ ob eine Eizelle die Mutation trägt (Polkörperdiagnostik in Zusammenarbeit mit Prof. B. Imthurn, Universitätsspital Zürich) (Def. s. S. 14)
- ➔ Gezieltes Management und gezielte Therapie
- ➔ Erstellung von Mutationsdatenbanken (HGMD, UMD)
- ➔ Wissenschaftliche Studien (z.B. Beitrag zum besseren Verständnis der molekularen Pathogenese und der genetischen/phänotypischen Heterogenität von MFS)

Gezieltes Management und gezielte Therapie bedeuten, dass eine Person mit einer pathogenen Mutation Folgendes benötigt:

- regelmässige Kontrolle (z.B. Echokardiographie, um eine Aortendilatation rechtzeitig zu erkennen) und
- eine **entsprechende Lebensweise** (Sport, Berufswahl)
- Individuen mit *TGFBR1*- oder *TGFBR2*-Mutation benötigen eine **häufigere kardiovaskuläre Kontrolle** als Personen mit *FBN1*-Mutation (*TGFBR1/TGFBR2*-Mutationen können auch innerhalb von Monaten und bei kleinerem Aortendurchmesser zur Ruptur/Dissektion führen)
- Patienten mit einer bestimmten Mutation können von einer gezielten Therapie profitieren (z.B. Medikamente, wie Losartan), nach dem Motto «from knowledge will come a cure»

In der aktuellen Gendiagnostik gibt es bei Verdacht auf MFS Grenzen. Sie kann nicht

- alle Mutationen detektieren, die zu MFS führen können,
- bei sporadischen Fällen das Vorliegen von MFS ausschliessen,
- den Verlauf der Krankheit genau vorhersagen (Personen mit der gleichen Mutation können unterschiedlich betroffen sein).

Die **Zukunft der Gendiagnostik** bei Verdacht auf MFS dürfte durch den Einsatz von **Ultra-Hochdurchsatz-Sequenzierungstechnologien** (UHTS) geprägt sein. Diese innovativen Technologien, die eine viel schnellere Mutationsfindung versprechen, müssen jedoch in den kommenden Jahren noch für die Qualitätsanforderungen der molekularen Gendiagnostik von MFS evaluiert werden. Zudem stellt die **Auswertung und Interpretation** der durch UHTS entstandenen Datenmengen noch eine grosse Herausforderung für die Zukunft dar.

5 Top-Gründe für eine Gendiagnostik

auch wenn die klinische Diagnose bereits vor Jahren gestellt wurde...

1. Bestätigung der klinischen Diagnose
2. Gewinnung wichtiger genetischer Informationen
3. Man kann mehr über die eigene Krankheit lernen
4. Voraussetzung für ein gezieltes Management bzw. eine gezielte Therapie, sowie für die Teilnahme in klinischen Studien für neue Medikamente
5. Beitrag zum wissenschaftlichen Kenntnisstand über Mutationen bei Patienten mit Verdacht auf Marfan Syndrom

FORSCHUNG & MEDIZIN

VORSTELLUNG - MARFAN-TEAM AM INSTITUT FÜR MEDIZINISCHE GENETIK (IMG)

ab 1.1.2012 Zentrum für Kardiovaskuläre Genetik und Gendiagnostik

Das Institut für Medizinische Genetik gehört zur Universität Zürich (UZH), und das Marfan-Team arbeitet hier in Zusammenarbeit mit dem Kinderspital Zürich. Daneben besteht eine Forschungszusammenarbeit mit anderen Universitätsspitalern in der Schweiz (z.B. Inselspital Bern, Prof. Thierry Carrel) und im Ausland. Die Forschungen wurden bzw. werden vom Schweizerischen Nationalfonds (SNF), der Schweizerischen Herzstiftung, dem Forschungskredit der UZH, dem FGCZ, Stiftung für Forschung an der Medizinischen Fakultät der UZH, Téléthon und der Wolfermann-Nägeli-Stiftung in Zürich unterstützt.

Einige Mitglieder des Marfan-Teams am Institut für Medizinische Genetik (IMG):



von li nach re Eliane Arnold (MSc), Caroline Henggeler (MSc), István Magyar (MSc, PhD Student), Janine Meienberg (MSc), PD Dr. sc. nat. Gábor Mátyás, Regina Perez (MSc),

Glossar zur Genetik

Jeder Mensch besteht aus Milliarden von Zellen. Jede Zelle hat einen Kern, in dem sich unser Erbgut (Desoxyribonukleinsäure, kurz DNS oder DNA) befindet. Die DNA ist auf verschiedenen Chromosomen (23 Paare) verteilt und enthält unsere Gene, in denen, wie in Bauplänen, geschrieben steht, wie ein Mensch heranwächst und wie er aussieht. Die DNA besteht aus vier paarweise angeordneten Bausteinen (Nukleotiden): A (Adenin) und T (Thymin) sowie G (Guanin) und C (Cytosin). Gene können Fehler (Mutationen) aufweisen. Manche Mutationen sind von den Eltern vererbt, andere entstehen spontan.

FBN1 = das menschliche Gen

Fibrillin-1 = das menschliche Protein

siehe auch <http://www.gene-abc.ch/dellexikon/deutsches-lexikon.html> oder: Nachfrage bei der Geschäftsstelle

Wichtige Zusatzinformationen zur Gendiagnostik von MFS & EDS IV

- MFS und EDS stehen weiterhin auf der Analysenliste und die Kosten von Untersuchungen zur Diagnose oder Behandlung dieser Krankheiten sollten deshalb obligatorisch von der Krankenkasse übernommen werden (ab und zu anerkennen die Krankenkassen diese Pflichtleistung erst dann, wenn man nachfragt, warum sie eine Pflichtleistung ablehnen). Genetische Abklärungen werden von der IV nur dann übernommen, wenn sie von dieser angeordnet wurden.
- Die DNA-Untersuchung auf MFS oder EDS IV dauert zurzeit mehrere Monate (6-18). Bei begründeten Ausnahmefällen ist jedoch eine schnellere Analyse möglich.
- Bei den vom Marfan-Team des IMG angebotenen MFS- und EDS IV-Genen belaufen sich die Kosten der DNA-Untersuchungen nach den aktuellen Tarifen (ab 01.07.2009) wie folgt:
 - Mutationsanalyse (Seq+MLPA) *FBN1*-Gen: ca. Fr. 3'760.-
 - Mutationsanalyse (Seq+MLPA) *TGFBR1*-Gen : ca. Fr. 2'470.-
 - Mutationsanalyse (Seq+MLPA) *TGFBR2*-Gen: ca. Fr. 2'040.-
 - Mutationsanalyse (Seq+MLPA) *COL3A1*-Gen: ca. 3'760.-
 - Mutationsanalyse (Seq) *MYH11*-Gen: ca. Fr. 3'410.-
 - Mutationsanalyse (Seq) *ACTA2*-Gen: ca. Fr. 1'905.-
- Aufgrund von klinischen Daten kann das Marfan-Team des IMG bestimmen, in welcher Reihenfolge bzw. welche dieser Gene untersucht werden müssen. In der Regel überschreiten die Gesamtkosten Fr. 3'760.- bzw. Fr. 8'270.- pro Patient nicht!

Ihre Fragen werden gerne beantwortet unter: matyas@medgen.uzh.ch
www.medmolgen.uzh.ch/research/marfansyndrome.html

ab 1.1.2012

matyas@genetikzentrum.ch

www.genetikzentrum.ch