



## ***Kurzinformation zur humangenetischen Untersuchung:***

### **Apolipoprotein E-Genotypisierung**

#### **(Sequenzanalyse der vom 5'-Ende des Exons 4 des APOE-Gens kodierten Aminosäuren 62-183)**

Apolipoprotein E ist Bestandteil der Chylomikronen sowie der Lipoproteine sehr niedriger Dichte (VLDL) und hoher Dichte (HDL) und spielt als Ligand von Lipoprotein-Rezeptoren (insbesondere des ApoB, E (LDL)-Rezeptors) eine zentrale Rolle im Cholesterin und Triglyzeridstoffwechsel. Das reife Glykoprotein hat eine Länge von 299 Aminosäuren und wird durch das aus vier Exons bestehende APOE-Gen auf Chromosom 19q13.32 kodiert. Das in der Zirkulation vorhandene Apolipoprotein E wird hauptsächlich von der Leber und zu einem kleinen Teil auch von Makrophagen synthetisiert. Darüber hinaus lässt sich eine Expression des APOE-Gens in einer Vielzahl anderer Gewebe wie dem Gehirn, der Milz, der Lunge, den Nieren und Nebennieren sowie den Ovarien nachweisen.

Apolipoprotein E ist wie andere kleine Apolipoproteine auch durch zum Teil gegenläufige amphipathische  $\alpha$ -Helices mit einer hydrophoben und einer hydrophilen Oberfläche charakterisiert, die es dem Protein erlauben, sowohl, nicht an Lipoproteinpartikel gebunden, multimere (vor allem tetramere) Komplexe zu bilden als auch, mit Lipiden assoziiert, als Detergens zu fungieren, das diese lipophilen Moleküle wasserlöslich macht.

Die Auftrennung des Apolipoprotein E im elektrischen Feld mit Hilfe der isoelektrischen Fokussierung führte schon 1975 zur Entdeckung der drei häufigen Isoformen ApoE3(Cys112,Arg158), ApoE4(Arg112,Arg158) und ApoE2(Cys112,Cys158), die sich durch den Gehalt an positiv geladenem Arginin unterscheiden. Diese drei Varianten werden durch drei Allele kodiert, die in der Bevölkerung mit unterschiedlicher Frequenz vorhanden sind. Das e3-Allel ist mit 72-79 % das häufigste und wird deshalb als „Normalallel“ bezeichnet. Das e4-Allel hat dagegen eine Häufigkeit von 13-16 %, das e2-Allel von 7-10 %. Dementsprechend finden sich in der Bevölkerung drei homozygote (ApoE3/E3, ApoE4/E4 und ApoE2/E2) und drei zusammengesetzt heterozygote (ApoE2/E3, ApoE2/E4 und ApoE3/E4) Phänotypen. Das e4-Allel erhöht den Cholesterinspiegel durchschnittlich um 5-10 %, das e2-Allel senkt ihn um rund 10-20 %. Dagegen führt eine ApoE2/E2-Homozygotie infolge der auf rund 1 % reduzierten Bindungsaktivität des Apolipoprotein E2 an den ApoB, E (LDL)-Rezeptor und des infolgedessen gestörten VLDL-Katabolismus zu einer familiären Dysbetalipoproteinämie (Hyperlipoproteinämie Typ III nach Fredrickson) und zu einem gesteigerten Atheroskleroserisiko, wobei eine fettreiche Ernährung, die die Lipoprotein-Zusammensetzung und die Größe des Partikels beeinflusst, die Krankheitsmanifestation wesentlich beeinflussen soll. Die familiäre Dysbetalipoproteinämie kann darüber hinaus auch durch andere, extrem seltene Mutationen des APOE-Gens verursacht werden. Die Rolle, die Apolipoprotein E in der zellulären Cholesterin-Homöostase spielt, ist nicht auf die periphere Zirkulation beschränkt. Immer bedeutender wird seine biologische Funktion im Zentralnervensystem, wo es das prädominante, vor allem von Astrozyten, aber auch von der Mikroglia und unter gewissen Umständen auch von Neuronen synthetisierte Apolipoprotein ist. Es assoziiert im Liquor mit Lipiden und anderen Apolipoproteinen wie ApoA-I und ApoA-IV zu diskoidalen und sphärischen, Cholesterin- und Phospholipid-reichen, HDL-ähnlichen Partikeln, die den Cholesterin-Transport im ZNS bewerkstelligen. Dabei scheinen die unterschiedlichen Isoformen, anders als in der Peripherie, keinen Einfluss auf den Lipidmetabolismus zu nehmen.

Dagegen spielen sie eine wichtige Rolle in der Manifestation der Alzheimer-Erkrankung und der sporadischen zerebralen Amyloid-Angiopathie. Ein und zwei e4-Allele erhöhen das Demenz-Risiko ungefähr um das Drei- bzw. Zwölffache. Gleichzeitig verlagert sich das Manifestationsalter ein bzw. zwei Dekaden nach vorne. e2-Allel-Träger haben dagegen ein geringeres Risiko, an einer Alzheimer-Demenz zu erkranken. Auch das Risiko einer sporadischen zerebralen Amyloid-Angiopathie und einer Hirnblutung steigt durch das e4-Allel an.

**Material:** 0,5 - 2 ml EDTA-Blut, Mundschleimhautabstrich, DNA (normaler Postversand)

**Methode:** Die DNA des Patienten wird aus den kernhaltigen Zellen des Blutes gewonnen. Anschließend wird das für die Aminosäuren 62-183 des reifen Proteins kodierende 5'-Ende des Exons 4 des APOE-Gens mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion amplifiziert und sequenziert.

**Zeitdauer:** ca. ein bis zwei Wochen