

Molekulargenetische Diagnostik

Hereditäre Lipidstoffwechselerkrankungen

Apolipoprotein-B (MIM 107730) und Apolipoprotein-E (MIM 107741) LDL-Rezeptor (MIM 143890)

Indikationen:

- positive Familienanamnese für Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Hyperlipidämie
- Hypercholesterinämie (Gesamtcholesterin > 230 mg/dl oder LDL > 175 mg/dl)
- Hypertriglyceridämie (Triglyceride > 200 mg/dl)

Pathophysiologie und klinische Bedeutung

Herzinfarkt und Schlaganfall gehören in Deutschland zu den häufigsten Todesursachen. Viele Patienten mit einer Herz-Kreislauf-Erkrankung leiden an einer Störung des Lipidstoffwechsels, für die neben Ernährungsfaktoren und Bewegungsmangel auch verschiedene erbliche Faktoren eine Rolle spielen. Häufig werden erbliche Lipidstoffwechsel-Erkrankungen dominant vererbt, so daß 50% der Kinder dieser Patienten ebenfalls von der Erkrankung betroffen sein werden. Außerdem treten bei Patienten mit dominant vererbten Lipidstoffwechsel-Erkrankungen die klinischen Symptome bereits in einem sehr jungen Lebensalter auf.

Häufige genetische Ursachen für Lipidstoffwechsel-Erkrankungen, die routinemäßig nachgewiesen werden können:

- **familiäre Hypercholesterinämie Typ II (reine Hypercholesterinämie durch LDL-Erhöhung)**
Häufigste hereditäre Lipidstoffwechsel-Erkrankung (in Europa ca. 1:500)
Genetische Ursache liegt in Mutationen des Apolipoproteins-B oder des LDL-Rezeptors
- **familiäre Hypercholesterinämie Typ III (Dyslipoproteinämie durch β -VLDL (Remnants), mäßige Erhöhung von Cholesterin und Triglyceriden)**
Rezessiv/polygene Form tritt mit einer Häufigkeit von 1:500 auf
Ursache ist häufig eine Homozygotie für das Allel E2 des Apolipoproteins-E
Die dominante Form beruht auf weiteren Mutationen des Gens für das Apolipoprotein-E

Das zu untersuchende Gen sollte auf Grund der klinischen Symptomatik und der laborchemischen Diagnostik ausgewählt werden. **Dazu ist zunächst eine Differenzierung zwischen der Hyperlipidämie Typ II und Typ III erforderlich:**

- Bei Verdacht auf **Hyperlipidämie Typ II** erfolgt die molekulargenetische Analyse des **Apolipoprotein-B** Gens und evtl. des LDL-Rezeptors (siehe dort)
- Bei Verdacht auf **Hyperlipidämie Typ III** erfolgt die molekulargenetische Analyse des **Apolipoprotein E** Gens

Apolipoprotein B

Das Apolipoprotein-B (ApoB) ist als Bestandteil der low-density-Lipoprotein (LDL)-Partikel für deren Bindung an den LDL-Rezeptor verantwortlich. Mutationen des ApoB-Gens führen häufig zu einer schlechteren Bindung der LDL-Partikel an den LDL-Rezeptor. Die Häufigkeit dieser Mutationen liegt in Mitteleuropa bei ca. 1:500. Unter den Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie lassen sich in 2-5% Mutationen des ApoB-Gens nachweisen.

Die häufigste Ursache liegt in Mutationen des Codons 3500 im Exon 26 des ApoB-Gens. Es können zwei Punktmutationen nachgewiesen werden (C→T, Nukleotid 9774 und G→A, Nukleotid 9775). Der ApoB-Defekt wird autosomal-dominant vererbt.

Im Gegensatz zu anderen Formen der familiären Hypercholesterinämie ist für Patienten mit Mutationen im ApoB-Gen eine Therapie mit HMG-CoA-Reduktase-Hemmern (Statine) nur von geringem Nutzen. Deshalb besitzt der Mutationsnachweis im ApoB-Gen auch für die weitere Therapieplanung eine große Bedeutung.

Für Patienten mit einer heterozygoten Mutation des Codons 3500 des ApoB-Gens ist das Risiko für Arteriosklerose und Herzinfarkte stark erhöht.

Indikationen zur molekulargenetischen Untersuchung des Apolipoprotein-B Gens

- familiäre Hypercholesterinämie Typ II
- Differentialdiagnose bei erhöhtem LDL-Cholesterinspiegel
- positive Familienanamnese in Bezug auf Herz-Kreislauf-Erkrankungen

Apolipoprotein E

Das Apolipoprotein E (ApoE) spielt eine wichtige Rolle im Cholesterintransport. ApoE bindet an eine Vielzahl von Lipoproteinen und an zwei hepatische Rezeptoren (LDL-Rezeptor und ApoE-Rezeptor). Die Ursache für erhöhte Cholesterin- und Triglycerid-Serumspiegel bei Patienten mit Dysbetalipoproteinämie oder Hyperlipidämie Typ III liegt häufig in einer verminderten Clearance von Chylomicronen und VLDL-Remnants, hervorgerufen durch eine verminderte Bindung von Apolipoprotein-E an die hepatischen Rezeptoren. Biochemisch lassen sich erhöhte VLDL-Spiegel, erhöhtes Cholesterin, erniedrigtes LDL und ein atypisches Lipoprotein (beta-VLDL) nachweisen.

In Mitteleuropa kommen hauptsächlich drei ApoE-Isoformen vor: ApoE2 (Frequenz 0,1), ApoE3 (Frequenz 0,75) und ApoE4 (Frequenz (0,15)). Die Bestimmung dieser Isoformen mittels proteinbiochemischer Methoden (isoelektrische Fokussierung) ist relativ aufwendig und kann bei bestimmten Erkrankungen verfälscht werden (z.B. durch Glykosylierung bei Diabetikern): Im Gegensatz dazu ermöglicht die molekulargenetische Bestimmung der ApoE2-Isoformen ein zuverlässiges Ergebnis. Die E2-, E3- und E4-Isoformen unterscheiden sich in der Aminosäuresequenz im Codon 112 bzw. 158 des Apo-E Gens (ApoE2 = Cys/Cys; ApoE3 = Cys/Arg; ApoE4 = Arg/Arg). Durch den verschiedenen Anteil positiver Ladungen (Arg) lässt sich die unterschiedliche elektrophoretische Mobilität der Isoformen erklären.

Die meisten Patienten mit Dysbetalipoproteinämie oder Hyperlipidämie Typ III sind homozygot für die E2-Isoform von ApoE. Allerdings entwickeln nur ca. 4% der Patienten mit Homozygotie für ApoE2 eine familiäre Dysbetalipoproteinämie. Deshalb ist der ApoE2-Phänotyp als genetischer Risikofaktor für diese Erkrankung anzusehen. Weitere bisher nicht identifizierte genetische Faktoren und insbesondere die Ernährung beeinflussen die Entwicklung der klinischen Symptomatik. Weitere Risikofaktoren für die Entwicklung einer Dysbetalipoproteinämie bei homozygoter ApoE2-Isoform sind Östrogen-Therapie (z.B. Substitutionstherapie in der Menopause), Hypothyreose, Übergewicht und Diabetes.

Genetische Ursachen der Dysbetalipoproteinämie bzw. der Hyperlipidämie Typ III:

- Homozygote ApoE2-Isoform
- Mutationen des Apolipoprotein E-Gens, die zu einer dominanten Ausprägung der Hyperlipidämie Typ III führen

Indikationen zur molekulargenetischen Untersuchung des ApoE-Gens

- Hyperlipidämie Typ III
- Differentialdiagnose bei erhöhten Cholesterin- bzw. Triglyceridwerten
- positive Familienanamnese für Hyperlipidämie Typ III bzw. Dysbetalipoproteinämie

LDL-Rezeptor

Die familiäre Hypercholesterinämie (Synonym Hyperlipoproteinämie Typ IIA MIM 143890) gehört mit einer Häufigkeit von 1:500 zu den häufigsten monogenen Erbkrankheiten und ist auf Mutationen des LDL-Rezeptors (LDLR, MIM 606945) zurückzuführen. Die Funktion des LDL-Rezeptors besteht darin, überschüssiges LDL-Cholesterin in die Leberzellen aufzunehmen und zu Gallensäure zu metabolisieren. Durch die Aufnahme der Lipoproteine kommt es gleichzeitig über Rückkopplungsmechanismen zu einer Hemmung der endogenen Cholesterinsynthese. Ein genetischer Defekt des LDL-Rezeptors führt über eine verringerte Aufnahme von LDL-Cholesterin in die Leber zu einer erhöhten endogenen Cholesterinsynthese. Durch die Erhöhung des LDL-Cholesterins kommt es zu einer Koronarsklerose und zu Lipidablagerungen im Bereich der Augenlider (Xanthelasma), in der Hornhaut des Auges (Arcus lipoides corneae), in Haut und Sehnen der Hände und Füße (Xanthome). Die familiäre Hypercholesterinämie wird autosomal dominant vererbt. Patienten mit einer defekten Kopie des LDL-Rezeptors (Heterozygote) haben Gesamtcholesterinspiegel von >300 mg/dl, während Patienten mit zwei defekten Kopien (Homozygote) in der Regel Gesamtcholesterinspiegel zwischen 600 und 1200 mg/dl aufweisen. Das LDLR-Gen ist auf Chromosom 19 (19p13) lokalisiert und besteht aus 18 Exons. Bisher sind über 800 Mutationen in den Datenbanken beschrieben, die über das gesamte Gen verteilt sind. Dabei handelt es sich hauptsächlich um Punktmutationen, kleinere Insertionen und Deletionen. Der Anteil von großen Deletionen und Rearrangements beträgt etwa 10 – 15%.

Methode:

DNA-Extraktion, PCR, Hybridisierung mit Mutations-spezifischen Sonden auf dem Light Cycler (für Apo-B und Apo-E)

PCR und Sequenzierung der 18 Exons des LDL-Rezeptor-Gens inklusive Promotorbereich und aller Exon/Intron-Übergänge. Komplette Deletionen sowie partielle Deletionen des LDLR-Gens werden mit dem MLPA-Kit (MRC-Holland) untersucht.

Untersuchungsmaterial:

2 ml EDTA Blut; normaler Postversand

Dauer der Untersuchung: 5 Arbeitstage (Apo-B/E)
8 Wochen (LDL-Rezeptor)

Literatur

Hanlon CS and Rubinsztein DC. Arginine residues at codons 112 and 158 in the apolipoprotein E gene correspond to the ancestral state in humans (1995) *Atherosclerosis* 6: 85-90

Ceska R et al. Familial defective apolipoprotein B-100: a lesson from homozygous and heterozygous patients (2000) *Physiol Res* 49 (Suppl): S125-S130

Goldstein JL, Brown MS. Familial hypercholesterolemia: pathogenesis of a receptor disease. *Johns Hopkins Med J.* 1978 Jul;143(1):8-16.

Villegier L, Abifadel M, Allard D, Rabes JP, Thiart R, Kotze MJ, Beroud C, Junien C, Boileau C, Varret M. The UMD-LDLR database: additions to the software and 490 new entries to the database. *Hum Mutat.* 2002 Aug;20(2):81-7.

Die angegebene Literatur können Sie per Fax oder E-mail in unserem Labor anfordern.

Stand 02/2005