

Apolipoprotein E Polimorfizmin Hiperlipoproteinemi ve Ateroskleroza Etkişi

Dr. Gülay HERGENÇ

Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul

ÖZET

Apo E izoformlarının ateroskleroza neden olan risk faktörlerinden biri olması ve Tip III Hiperlipoproteinemili (HLP) hastaların %90'nun apo E2/2 homozigot bireyler olmaları apo E geno ve fenotiplemeye olan ilginin artmasına sebep olmuştur.

Apolipoprotein E lipoproteinlerin reseptörlerine bağlanmasında ligand görevi yaparak lipoprotein metabolizmasında önemli bir rol oynar. Ana formu E3 olan apo E'nin E2 ve E4 sık rastlanan varyantları normal kişiler arası görülen lipid ve lipoprotein düzeyleri farklılıklarında etkili olmaktadır. E2 ve bir düzine kadar seyrek rastlanan apo E varyantı düşük dansiteli lipoprotein reseptörüne bağlanma bozukluğu göstermekte ve Tip III hiperlipoproteinemiye neden olmaktadır.

Anahtar kelimeler: Apo E, polimorfizm, genotip

Plazma lipoproteinlerinin yapısındaki proteinlerden biri olan apolipoprotein E düşük dansiteli lipoprotein reseptörlerini tanıyarak kolesterol ve diğе lipidlerin transportunda rol oynar (1). Değişik lipoproteinlerin metabolizmasında rol almasının yanı sıra, Apo E lipoprotein partiküllerinde yapı taşı olarak da iş görür (2,3).

Apo E'nin polimorfik yapısı ilk olarak Uterman ve ark. tarafından izoelektrofokusing ile gösterilmiş (4), sonradan Zannis ve Breslow (5) tarafından iki boyutlu elektroforez ile daha açıklığa kavuşturulmuştur. Apo E2, E3 ve E4 apo E'nin ana izoformlarıdır ve tek bir gen lokusundaki üç allelin ürünleridir (6).

Homozigot fenotipler: apo E2/2, E3/3, E4/4, heterozigot fenotipler: apo E3/2, 3/4, 4/2 bu üç allelin herhangi ikisinin ekspresyonudur (7). Değişik popülasyonlarda farklı olmak üzere sıklık sırasına göre E3/3, E4/4, E3/2 olarak görülmektedir (9). En sık rastlanan fenotip E3/3, en sık rastlanan allel E3 olmasından dolayı apo E3 ana form, E4 ve E2 varyantlar olarak kabul edilmektedir (10-13).

Apo E polimorfizminin moleküler düzeyde belirlenmesi izoformların aminoasit sekanslarının belirlenmesi ile olmuştur. E4, E3 ve E2 arasındaki fark, amino asit değişimlerinden kaynaklanmaktadır.

APO E GENİNDE GÖRÜLEN MUTASYONLAR

Bugüne kadar apo E geninde saptanmış ve yayınlanmış mutasyonlar Tablo 1'de görülmektedir. Tip III HLP'ye sebep olduğu halde reseptör bağlama bozukluğu ile ilgili olmayan apo E varyantı apo E eksikliği durumudur (apo E 0). Apo E geninin 3. intronundaki mutasyonda homozigot olan bireylerde anormal mRNA'dan dolayı apo E proteini sentezlenmemektedir. Heterozigotlarda Tip III HLP görülmemektedir, sadece plazma apo E düzeyi normalin yarısı kadardır. İkinci tip apo E eksikliğinde plazma apo E'si normalin % 1'i kadardır. Apo E genindeki bir nokta mutasyonu sonucunda proteinin uzunluğu 210 amino asitte son bulacak şekilde stop kodon meydana gelir (Tablo 1).

APO E POLİMORFİZMİNİN LİPİD DÜZEYLERİNE ETKİSİ

Apo E'nin üç ana izoformunun plazma lipidlerinin

Alındığı tarih: 25 Mart 1994
Yazışma adresi: Gülay Hergenç, Kalamış Sokak 3/18 81030-Fenerbahçe-İstanbul

Tablo 1. Apo E geninde görülen mutasyonlar

Mutasyon	Reseptör bağlama
E4 112. Cys--Arg	% 100
E2 158. Arg--Cys	% 2
E2 145. Arg--Cys	% 45
E2 146. Lys--Gln	% 40
E1 127. Gly--Asp, 158. Arg--Cys	% 4
E3 112. Cys--Arg, 142. Arg--Cys	< % 20
E4 145. Arg--Cys, 13. Glu--Lys	
E1 146. Lys--Glu	
E2 136. Arg--Ser	
E5 3. Glu--Lys	
E7 244. Glu--Lys, 245. Glu--Lys	
E4 139. Ser--Arg, 149. Leu--Ala	
E2 142. Arg--Cys	
E3 142. Arg--Cys, 112. Cys--Arg	
E2 136. Arg--Ser	
E5 84. Pro--Arg	
E2 228. Arg--Cys	
E5 13. Glu--Lys	
E4 13. Glu--Lys, 145. Arg--Cys	
E3-Leiden 121-127 aa tandem tekrarı	
E2 228. Arg--Cys	
210 amino asit uzunluğunda güdük apo E	

ve lipoproteinlerinin türevleri üzerinde önemli etkileri vardır. Apo E3 ile karşılaştırıldığında, apo E4 daha yüksek plazma kolesterol düzeyleri, daha yüksek LDL-kolesterol düzeyleri ve daha düşük apo E düzeyleri ile ilişkilidir (14). Diğer yandan, apo E2 daha düşük total kolesterol ve LDL kolesterol düzeyleri ve daha yüksek apo E düzeyleri ile ilişkilidir. Apo E polimorfizminin plazma kolesterolündeki bireylerarası değişimlerin %10-15'inden sorumlu olduğu tahmin edilmektedir (4).

Apo E izoformları çeşitli plazma lipoproteinleri arasında dağılım farkı göstermektedir. Apo E4 plazmada özellikle trigliserid yönünden zengin lipoproteinler (VLDL) ile ilişkilidir. Apo E3 ve E2 ise öncelikle HDL ile ilişkilidir. Apo E4 içeren VLDL apo E3 içeren partiküllere göre plazmadan daha çabuk temizlenir. VLDL kolesterolün karaciğere daha etkin olarak taşınması sonucu, LDL reseptörleri sayıya azalır.

Ayrıca apo E4 içeren IDL'in LDL'ye dönüşümü, E3 içeren IDL'ye göre daha fazladır (14). Tip III HPL'ye neden olan sekonder faktörlerin yokluğunda, apo E2, LDL düzeylerinin azalmasına, dolayısıyla LDL reseptörlerinin artmasına yol açmaktadır. Apo E2 içeren lipoproteinler, reseptör bağlama kusuru nedeniyle, karaciğere kolesterol iletiminde daha etkisizdir. Apo E2 içeren lipoproteinlerin temizleme hızları azalmıştır. Apo E2'nin reseptör bağlama ye-

teneğinin bozuk olması, E2 içeren VLDL'nin plazmada birikmesine sebep olur, plazma trigliserid düzeyi artar. E2 içeren IDL'in LDL'ye çevrilmesi azalmıştır (14). Aterojenik kolesterolden zengin lipoprotein artıklarının plazma düzeyini artıracak başka etkenler olmadığı takdirde, E2 allelinin LDL kolesterol düzeylerini düşürücü etkisi varmış gibi görülmektedir.

HİPERLİPOPROTEİNEMİ ve APO E POLİMORFİZMİ

Tip III HLP bugüne kadar gözlenen apo E ile ilgili yegane lipoprotein bozukluğudur. Bu hastalıkla ilgili olan tüm apo E genetik varyantları reseptör bağlamada bozukluk göstermektedir (15). Tip V hiperlipoproteinemi ile apo E4/4 arasında henüz aydınlığa kavuşmamış bir ilişki olup olmadığı, gelecekte yapılacak çalışmalarla aydınlığa kavuşacaktır (16). Fakat reseptör bağlama bozukluğu olmayan bazı varyantların da ateroskleroz ve bazı hiperlipidemilerle ilgili olduğu saptanmıştır. Bazı apo E varyantları genel popülasyon taramasından değil, hastaların fenotipleme ile ortaya çıkarılmıştır. Ancak hasta sayısının yeterli olmayışı ve yeterli aile çalışmalarının yapılamamış olmasından dolayı, henüz apo E ile hiperlipidemi ve ateroskleroz bağlantısının boyutları netlik kazanmamıştır.

Lipoprotein metabolizmasının genetik bir bozukluğu olan Tip III hiperlipoproteinemi, bireylerde çok erken yaşlarda ateroskleroz gelişmesine neden olmaktadır. Tip III HLP insidansı on binde 1-10'dur. Klinik karakteristikleri koroner arterlerde ve alt bacağın periferik arterlerinde ateromatoz lezyonlar, tuberöz ksantomalar ve diğer herhangi bir hastalıkta görülmeyen ksantoma strata palmaristir. Tip III HLP'nin biyokimyasal özellikleri yüksek kolesterol (300-700 mg/dl) ve trigliserid (300-700 mg/dl) gibi yükselmiş lipid düzeyleri, $d > 1.006$ g/ml dansiteli ve beta elektroforetik mobilite gösteren anormal bir lipoprotein türü olan b-VLDL'den kayraklanmaktadır (1). b-VLDL hem karaciğer tarafından üretilen VLDL, hem barsak tarafından üretilen şilomikronlardan kaynaklanmaktadır. b-VLDL apo E'den çok zengindir.

Tip III HLP'li hastaların hemen hemen tümü apo E2/2'dir. Apo E2 heterozigot hiçbir bireyde Tip III HLP

veya b-VLDL'ye rastlanmamıştır. Genel popülasyonun %1'i apo E2 homozigottur. Tüm E2/2 homozigotlarda b-VLDL (primer disbetalipoproteine mi) saptandığı halde, sadece %1-10'unda Tip III HLP saptanmaktadır. Gerçekte E2/2 bireyler düşük LDL kolesterollerinden dolayı hipokolesterolemidir. Utermann ve ark. (17) ilk olarak ortaya attığı gibi, E2/2 homozigotlarda Tip III HLP'nin düşük oranda görülmesinde başka genetik ve çevresel faktörler de önemlidir. Tip III HLP ile ilgili nadir rastlanan apo E varyantlarından sadece biri (apo E1) Tip III HLP geçişinde resessif kalıtım gösterir. Bu apo E varyantı apo E2 gibi 158. pozisyonunda Cys bulundurur, ayrıca 127. pozisyonunda Gly yerine Asp bulundurur. Klinik olarak E1 homozigot bireyler, çoğunlukla E2/2 genotipli bireylerden ayrılama-ktadır. Bu yüzden 127. pozisyonundaki mutasyon fonksiyonel olarak sessiz kalmış bir mutasyondur.

Diğer nadir apo E varyantları Tip III HLP geçişinde dominant kalıtım göstermektedir; Tip III HLP'nin görülmesinde heterozigot durum yeterli olmaktadır. Primer disbetalipoproteinemi ve Tip III HLP de geçiş %100 civarındadır. Dominant Tip III HLP de hastalığın klinik olarak ortaya çıktığı yaş resessif Tip III HLP'ye göre daha erkendir. Resessif tip erkeklerde ve postmenopozal kadınlarda daha çok görülürken, dominant tip, içlerinde genç kızların da bulunduğu premenopozal kadınlarda daha çok rastlanmaktadır (4). Resessif tipte erkekler dahi 40-50 yaşlarına gelmeden hiperlipidemik olmazlar.

ATEROSKLEROZ ve APO E POLİMORFİZMİ

Normal ve dislipemik bireylerde yapılan gözlemler sonucu apo E lokusundaki allelik farklarının plazma lipid ve lipoprotein düzeylerine etkisi görülmüş ve insanlarda apo E polimorfizminin ateroskleroza yakınlıkta önemli bir rol oynayacağı hipotezi doğmuştur (18). Bu hipotezi doğrulamak için miyokard infarktüsü geçirmiş bireylerde ve sağlıklı normalde yapılan çalışmalar, ana apo E varyantı olan E4 ve E2 allellerinin ateroskleroz gelişmesindeki rollerini ortaya koymuştur (14). E2 allelinin plazma LDL kolesterol düzeylerini düşürdüğü, fakat hipertrigliseridemiye yakınlığı artırdığı, E4 allelinin LDL kolesterol düzeylerini artırarak ateroskleroz gelişmesine sebep olduğu gösterilmiştir (19).

Utermann ve ark. (17) miyokard infarktüsü geçirmiş ve yaş ortalaması daha düşük kontrol grubunda yaptığı çalışma sonucunda hasta ve kontrol grubu arasında E3 ve E2 bağlı allel frekansında anlamlı fark görülmezken, E4 allel frekansı KAH olan grupta düşük bulunmuştur. Cumming ve Robertson'un yaptıkları çalışmada (20) MI grubunda E4/3 frekansının yüksek olduğu ve E4/3 fenotipli bireylerde diğer fenotiplilere göre ilk infarktüsün geçirilme yaşı ortalamasının daha düşük olduğu gösterilmiştir. Lenzen ve ark. (21) tarafından yapılan çalışmada miyokard infarktüsü (MI) ile kontrol grubu arasında apo E fenotipi ve allel frekansı bakımından bir fark görülmemiştir. Ancak E2 ve E4 allellerinin plazma total ve LDL kolesterolde önemli etkileri belirlenmiştir, koroner arter hastaları ve kontrol grubunda plazma kolesterol düzeyleri fenotiplerde şu sıraya göre azaldığı görülmüştür: E4/3, E3/3, E3/2.

Apo E polimorfizmi normolipemik, gelişigüzel seçilmiş popülasyonda ve hiperlipidemik grupta plazma kolesterol düzeylerinde aynı etkiyi göstermektedir. E4/3 ve E3/2 fenotiplerinin LDL kolesterol/ HDL kolesterol ve apo B/apo AI oranlarının E3/4'e göre yüksek olduğu bulunmuştur (19). PROCAM çalışmasında apo E3/4 heterozigotların E3/3'e göre, HDL-kolesterol düzeyleri %10 düşük bulunmuştur (22). E4/3 fenotiplerinin %60'ı ve E3/2 fenotiplerinin %23.7'si erken yaş (< 50), E4/3 fenotiplerinin %40 ve E3/2'nin %76.3'ü geç yaş (> 50) infarktüslerinde görülmüştür.

Bu gözlemlerle Utermann ve ark. 'nın gözlemleri arasındaki fark MI grubundaki klinik farklılıklardan kaynaklanmaktadır (23). MI geçiren her hastada önemli aterosklerotik lezyonların olup olmadığı anjiyografi ile gösterilmiştir. Lenzen ve ark.'nın çalışmasında ana koroner arterlerin stenozunun %50' den fazla olduğu vakalar çalışmaya alınmıştır. Menzel ve ark. kontrol grubunun ortalama yaşının hasta grubuna göre daha düşük olduğu bir çalışmada (24) iki grup arasında apo E fenotip dağılımında farklılık bulamamışlardır. KAH grubunda diğer çalışmalara göre daha fazla E2/3 fenotipi bulunmuştur (24)

Dünyadaki en yüksek miyokard infarktüs oranının bulunduğu Finlandiya'da yapılan bir çalışmada, E4 allel bağlı frekansı 0.227 bulunurken E2 allel bağlı frekansı 0.041 bulunmuştur (25). Belirli yörelerde ya-

Tablo 2. Apo E gen lokusunun yaygın allellerinin bağlı frekansı (14)

Popülasyon	Sayı	E2	E3	E4	Diğer
Pekin, Çinli	95	0.053	0.883	0.064	
Montreal, Çinli	101	0.114	0.822	0.064	
Japon, Hiroşima	110	0.023	0.891	0.086	
Japon, Asahikawa	576	0.037	0.846	0.117	
Japon, Tokyo	197	0.038	0.843	0.112	0.007
Framingham, ABD	1209	0.072	0.786	0.140	0.002
Münster, Almanya	1557	0.072	0.786	0.140	
Helsinki, Finlandiya	615	0.041	0.733	0.227	
Nancy, Fransa	223	0.130	0.742	0.128	
Christchurch, Y. Zelanda	426	0.120	0.720	0.160	

pılan çalışma sonuçları Tablo 2'de gösterilmektedir. Genel olarak beyaz ırkta E2 allelinin bağlı frekansı %8, E3 allelinin bağlı frekansı %77, E4 allelinin bağlı frekansı %15 olarak verilebilir⁽⁸⁾. Mahley'in 30 Kasım 1993 tarihli sempozyumda sonuçlarını açıkladığı 8500 kişiyi kapsayan "Türk Kalp Çalışması"nda E3 için %86, E2 için %7, E4 için %7'dir. Bizim 50 miyokard infarktüsü geçirmiş ve 40 sağlıklı kontrolde yaptığımız çalışma sonucu ise E3 için %90, E2 için %6.7, E4 için %3.3 olarak bulunmuştur⁽²⁶⁾.

Apo E allelinin KKH'na olan etkisinde yaşın da önemi büyüktür. Sing ve ark.⁽²⁷⁾ Framingham ve Otowa çalışmaları sonuçlarından lojistik risk formülü ile E4 fenotiplerinin E2'ye göre 1.43 kat riskte olduklarını ve bireyler arasında apo E gen lokusundan dolayı %2.8 risk farklılığı olduğunu göstermişlerdir⁽²⁸⁾.

Kısaltmalar: LDL düşük yoğunluklu lipoprotein, VLDL çok düşük yoğunluklu lipoprotein, HDL yüksek yoğunluklu lipoprotein, HPL hiperlipoproteinemi.

KAYNAKLAR

1. Mahley RW, Weisgraber KH, Innerarity TL, Rall SC: Genetic defects in lipoprotein metabolism. JAMA 265:78, 1991
2. Voet D, Voet JG: Biochemistry. New York, John Wiley & Sons, 1990. p.304
3. Das HK, McPherson, Bruns GAP, Karathanasis SK, Breslow JL: Isolation, characterization, and mapping to chromosome 19 of the human apolipoprotein E gene. J Biol Chem 260:6240, 1985
4. Mahley RW: Apolipoprotein E: Cholesterol transport with expanding role in cell biology. Science 240:622, 1988
5. Zannis VI, Breslow JL: Human very low density li-

poprotein apolipoprotein E isoprotein polymorphism is explained by genetic variation and posttranslational modification. Biochem 20:1033, 1981

6. Zannis VI: Genetic polymorphism in human apolipoprotein E. Methods in Enzymology 128:823, 1986
7. Dong LM, Yamamura T, Yamamoto A: Enhanced binding activity of an apolipoprotein E mutant, apo E5 to LDL receptors on human fibroblasts. Biochem Biophys Res Comm 168:409, 1990
8. Crews DE, Kamboh MI, Bindon JR, Ferrell RE: Genetic studies of human apolipoproteins. XVIII: Population genetics of apolipoprotein polymorphisms in American Samoa. Am J Anthropol 84:165, 1991
9. Gomes JA, Gonzales MJ, Moragas JM, Serrat J, Gonzales S, Perz M: Apolipoprotein E phenotypes, lipoprotein composition, and xanthelasmas. Arch Dermatol 124:1230, 1988
10. Rall SC, Mahley RW: The role of apolipoprotein E genetic variants in lipoprotein disorders. Am J Int Med 231:653, 1992
11. Wenham PR, Newton CR, Price WH: Analysis of apolipoprotein E genotypes by the amplification refractory mutation system. Clin Chem 37:241, 1991
12. Weisgraber KH, Rall SC, Mahley RW: Human E apoprotein heterogeneity. J Biol Chem 256:9077, 1981
13. Houlston RS, Wenham PR, Humpries SE: Detection of apolipoprotein E polymorphisms using PCR/ASO probes and southern transfer: application for routine use. Clin Chimica Acta 189:153, 1990
14. Davignon J, Gregg RE, Sing CF: Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. Arteriosclerosis 8:1, 1988
15. Kane JP, Malloy MJ: Disorders of lipoprotein metabolism. In: Greenspan FS (eds). Basic and Clinical Endocrinology. Beirut Appleton & Lange, 1991. p.663
16. Smeets HJM, Poddighe J, Stuyt PMJ, Stlenhoef AFH, Ropers HH, Wieringa B: Identification of apolipoprotein E polymorphism by using synthetic oligonucleotides. J Lipid Res 29:1231, 1988
17. Utermann G, Hardewig A, Zimmer F: Apo E phenotypes in patients with myocardial infarction. Hum Genet 65:237, 1984
18. Dong LM, Yamamura T, Yamamoto A: Enhanced binding activity of an apolipoprotein E mutant, apo E5 to LDL receptors on human fibroblasts. Biochem Biophys Res Comm 168:409, 1990
19. Assmann G: Genes and dyslipoproteinemias. Eur Heart J 11:4, 1990
20. Cumming AM, Robertson F: Polymorphism at the apo E locus in relation to risk of coronary disease. Clin Genet 25:310, 1984
21. Lenzen HJ, Assmann G, Buchwalsky R, Schulte H: Association of apolipoprotein polymorphisms, low density lipoprotein cholesterol, and coronary artery disease. Clin Chem 32:778, 1986
22. Assmann G, Schulte H: Result and conclusion of the prospective cardiovascular münster (PROCAM) study. In: Assmann G (ed). Lipid Metabolism Disorders and Coronary Heart Disease. Munich: MMV Verlag, 1993. p.21
23. Chamberlain JC, Galton DJ: Genetic susceptibility to atherosclerosis. Lipids and Cardiovasc Dis 46:917, 1990
24. Menzel HJ, Kladetzksy RG, Assmann G: Apo-

lipoprotein E polymorphism and hyperlipoproteinemia. Arteriosclerosis 3:310, 1983

25. **Levy RI:** Declining mortality in coronary heart disease. Arteriosclerosis 1:312, 1981

26. **Hergenç G:** Miyokard infarktüsü geçirmiş hastalarda ve sağlıklı kişilerde apo E geninin Hha I ve Taq I restriksiyon enzimleri ile tiplendirilmesi (Doktora Tezi). İstanbul, 1994. p.53

27. **Sing CF, Boerwinkle E, Moll P, Davignon J:** Apolipoprotein and cardiovascular risk: genetics and epidemiology. Ann Biol Clin 43:407, 1985

28. **Zannis VI, Breslow JL:** Human very low density lipoprotein apolipoprotein E isoprotein polymorphisms explained by genetic variation and posttranslational modification. Biochem 20:1033, 1981