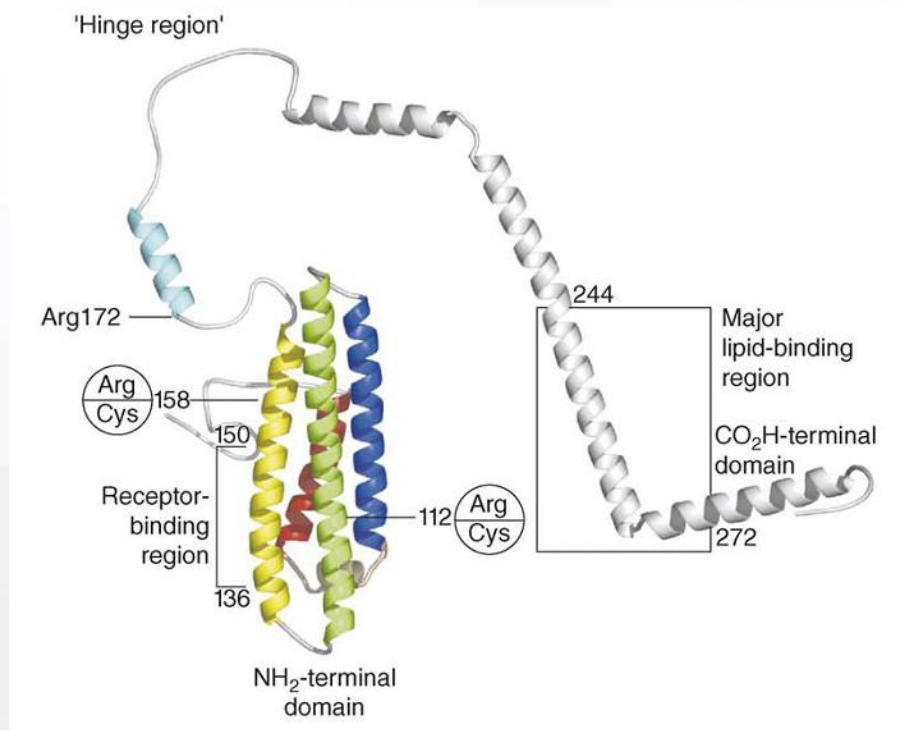


GENOTIP DE L'APOLIPOPROTEINA E I L'ALZEIMER

L'apolipoproteïna E (ApoE) és una proteïna de 299 aminoàcids, constituïda per una única cadena polipeptídica. Aquesta proteïna està plegada en dos dominis estructurals independents. Un fragment correspon als aminoàcids 1-191 (22KD) i l'altre als aminoàcids 216-299 (10KD). L'extrem N-terminal inclou el lloc d'interacció amb el receptor que és una regió rica amb aminoàcids bàsics. En l'extrem carboxi-terminal, els aminoàcids 263-286 són els responsables de la interacció de l'ApoE amb els lípids i amb les lipoproteïnes de molt baixa densitat (VLDL).

L'ApoE està implicada en el transport del colesterol i d'altres lípids en diferents teixits. És la principal apolipoproteïna que s'expressa en el teixit cerebral, principalment en la neuròglia. Influeix en la quantitat de dipòsit d'amiloide en el parènquima i en els vasos cerebrals, així com en la densitat de la degeneració neurofibril·lar en el sistema límbic.



Estructura tridimensional Apolipoproteïna E.

Catlab Informa

El gen que està associat a aquesta lipoproteïna es troba situat al braç llarg del cromosoma 19 a la posició 13.2.(fig.1)

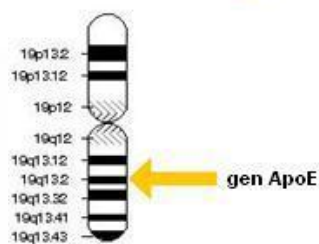


Fig.1

El gen ApoE té 3.7Kb i està format per 4 exons. Presenta tres variants o al·lels que corresponen a les tres isoformes principals de l'ApoE. Aquestes variants al·lèliques són la E2 (freqüència aprox. població general 6%), la E3 (78% dels al·lels) i la E4 (16%).

Aquestes tres isoformes (fig.2) es caracteritzen per la presència dels aminoàcids cisteïna o arginina en les posicions 112 i 158 de la proteïna. Així, quan en les dues posicions hi ha l'aminoàcid cisteïna es tracta de la isoforma ApoE2, si en la posició 112 hi ha una cisteïna però en el residu 158 una arginina, parlarem de la isoforma ApoE3 (al·lel ancestral). Finalment si en les dues posicions hi ha una arginina, ens referim a la isoforma ApoE4.

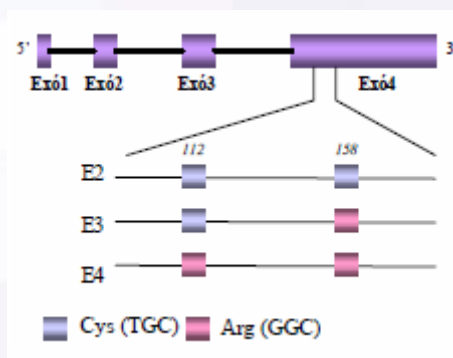


Fig.2

Catlab Informa

Les variacions polimòrfiques del locus de ApoE actuen com a factors de risc heretats i afecten la susceptibilitat genètica a la malaltia d'Alzèimer (MA). Diferents genotips tenen un efecte més acusat sobre la distribució del risc i la edat d'inici de la MA.

L'any 1993 es va descriure per primera vegada l'associació de l'al·lel E4 amb la MA. Pacients amb aquesta malaltia, la freqüència de l'E4 s'incrementa fins al 40% respecte als individus sans que és un 15%, mentre que l'al·lel E2 està reduït al 2%. A més, hi ha una relació "dosi-depenent", de tal manera que les persones homozigotes E4/E4 tenen de 9 a 10 vegades més risc de patir la malaltia i un inici més precoç que els heterozigots; aquests últims tenen 3 vegades més risc de patir-la.

D'altra banda, l'al·lel E2 es troba subrepresentat en el grup de malalts quan es compara amb població envellida sense MA. Si es comparen els riscos de patir MA per els individus portadors del genotip E2/E3 respecte aquells amb , almenys un al·lel E4, es pot comprovar que el risc es de 0,6. Per tant, l'al·lel E2 podria ser considerat com un al·lel protector per la MA.

Al departament de Biologia Molecular de Catlab, fem els estudis del genotip de l'ApoE. Aquests tests ens venen sol·licitats sobretot de les àrees de neurologia dels diferents hospitals que donem servei.

L'assaig **GenoType ApoE** està basat amb la tecnologia **DNA-STRIP**. El procediment complet es divideix en tres fases:

- Extracció ADN.
- PCR.
- Hibridació reversa.

Extracció ADN:

Es fa l'extracció dels àcids nucleics a partir de sang total amb l'equip Qiacube.

PCR:

Es fa l'amplificació dels àcids nucleics mitjançant una PCR múltiplex amb encebadors marcats amb biotina.

Hibridació Reversa:

Es fa una hibridació reversa sobre tires de nitrocel·lulosa recobertes amb sondes específiques complementaries als àcids nucleics amplificats. Es realitza amb l'equip Auto-LiPA. L'elevada especificitat d'unió de les sondes amb el DNA

Catlab Informa

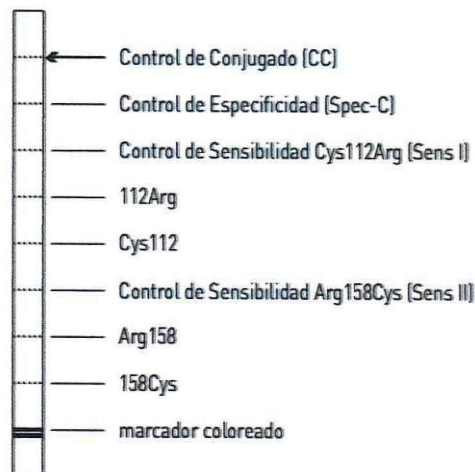
complementari està assegurada per les condicions astringents resultants de la combinació del tampó i la correcta temperatura d'hibridació.

Amb la finalitat de validar el funcionament correcte del test i la funcionalitat dels components correctes del kit, cada tira reactiva inclou 4 zones de control:

-una zona de control de conjugat (**CC**) per comprovar la unió del conjugat a la tira i una reacció cromogènica perfecta.

-dos zones de control de sensibilitat (**Sens I, Sens II**) per comprovar la sensibilitat òptima de la reacció de cada locus testat.

-una zona de control d'especificitat (**Spec-C**) per comprovar falsos positius.



Esquema tira reactiva Gen ApoE

Es poden donar 6 possibles genotips:

Al·lel 1	Al·lel 2	Genotip
E3	E3	E3/3
E3	E2	E3/2
E4	E3	E4/3
E4	E4	E4/4
E4	E2	E4/2
E2	E2	E2/2

Catlab Informa

En els casos en que hi trobem al·lels E4 implicats, també afegim un comentari informant del risc genètic incrementat envers la MA.

Un al·lel E4: genotips E4/2, E4/3

Comentari: La presència d'un al·lel E4 s'associa amb un risc moderat (odds rati: 2,2-4,4) de desenvolupar la MA. Els portadors d'alguns al·lels E4 tenen una edat d'inici de la MA més precoç que els individus no portadors.

Dos al·lels E4: genotip E4/4

Comentari: La presència de dos al·lels E4 s'associa amb un risc elevat (odds rati: 5,1-17,9) de desenvolupar la MA. Els portadors d'alguns al·lels E4 tenen una edat d'inici de la MA més precoç que els individus no portadors.

Al nostre laboratori, la prevalença dels genotips amb algun al·lel E4 (26%), concorda amb la bibliografia. El genotip E33 és el més freqüent.

En conclusió, aquests tests són sol·licitats pels especialistes en l'àmbit assistencial per descartar factors genètics que condicionen la M.A a la nostra àrea d'influència.

Bibliografia:

Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, Roses AD, Haines JL, Pericak-Vance MA. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 13 Aug 1993;Vol. 261, Issue 5123, pp. 921-923.

Corder EH, Saunders AM, Risch NJ, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Rimmler JB, Conneally PM, Schmader KE, and et al. Protective effect of apolipoprotein E type 2 allele for late onset Alzheimer disease. *Nat Genet*,7(2):180-4,1994.

Devanand DP, Pelton GH, Zamora D, Liu X, Tabert MH, Goodkind M et al. Predictive utility of apolipoprotein E genotype for Alzheimer disease in outpatients with mild cognitive impairment. *Arch Neurol*. 2005; 62: 975-80.

Catlab Informa

Holtzman DM, Herz J, Bu G. Apolipoprotein E and Apolipoprotein E Receptors: Normal Biology and roles in Alzheimer disease. Cold Spring Harb Perspect Med. 2012 Mar; 2(3): a006312.

Jordi Roigé

Biologia Molecular

CATLAB

Tel. 93.748.56.00 - ext. 35020 / 628.16.78.63

jroige@catlab.cat

www.catlab.cat
