

Apo E als Modifizier des Smith-Lemli-Opitz-Syndroms

Martina Witsch-Baumgartner

Department für Medizinische Genetik, Molekulare und Klinische Pharmakologie,
Medizinische Universität Innsbruck

Zusammenfassung

Am Beispiel des Smith-Lemli-Opitz Syndroms (SLOS) können zwei genetische Faktoren dargestellt werden, die die Ausprägung des Phänotyps beeinflussen: Sie reicht von sehr mild betroffenen Patienten bis zu intrauterinem Fruchttod. Das SLOS wird durch eine Vielzahl von Mutationen im *DHCR7*-Gen verursacht. Der unterschiedliche Schweregrad der Ausprägung von SLOS kann zum größten Teil durch die modulierende Wirkung des *DHCR7*-Genotyps erklärt werden. Zur schwersten Form der Ausprägung, dem intrauterinen Fruchttod, führt meist Homozygotie oder compound Heterozygotie zweier sogenannter Nullmutationen. Diese Nullmutationen führen höchstwahrscheinlich zu einem komplett inaktiven Enzym.

Der zweite modifizierende Faktor, Apolipoprotein E (Apo E), beeinflusst die Bereitstellung von Cholesterin während der Embryogenese. Die Effizienz des Cholesterintransports von Mutter zum Embryo wird durch den maternalen Apo E-Genotyp beeinflusst. Apolipoprotein E hat also neben seiner Funktion der Cholesterinbereitstellung eine weitere modifizierende Funktion während Embryogenese und Entstehung von Fehlbildungen.

Schlüsselwörter: Smith-Lemli-Opitz-Syndrom, Cholesterinbiosynthese, Apolipoprotein E, sonic hedgehog (SHH)

Summary

Considering as example the Smith-Lemli-Opitz syndrome two genetic factors may be demonstrated, which modify the phenotypical severity of the disease. The Smith-Lemli-Opitz syndrome is an autosomal recessive malformation and mental retardation syndrome that ranges in clinical severity from minimal dysmorphism and mild mental retardation to severe congenital anomalies and intrauterine death. Smith-Lemli-Opitz syndrome is caused by mutations in the $\Delta 7$ -sterolreductase gene (*DHCR7*), which impair endogenous cholesterol biosynthesis and make the growing embryo dependent on exogenous (maternal) sources of cholesterol. Up to now over 80 causal *DHCR7* mutations have been described. The *DHCR7* genotype explains the major part of the variability of the disease severity. The *DHCR7* genotype represents therefore a modulating factor of the SLOS phenotype. Homozygosity or compound heterozygosity of so called null mutations is leading in the majority of cases to intrauterine death. The second modifying factor is apolipoprotein E (*apo E*). The efficiency of cholesterol transport from the mother to the embryo is affected by the maternal *apo E* genotype and extends the role of *apo E* and its disease association to modulation of embryonic development and malformations.

Keywords: Smith-Lemli-Opitz syndrome, cholesterol biosynthesis, apolipoprotein E, sonic hedgehog (SHH)

Einleitung

Das Smith-Lemli-Opitz-Syndrom (SLOS, MIM 270400) wurde erstmalig 1964 von David Smith, Luc Lemli und John Opitz beschrieben und von ihnen auch RSH-Syndrom genannt, nach den Namen der ersten drei Patienten. Es handelt sich bei diesem Syndrom um eine autosomal rezessiv vererbte Stoffwechselstörung, die zu Fehlbildungen und mentaler Retardierung führt. Die charakteristischen Merkmale sind, neben einer allgemeinen körperlichen und geistigen Entwicklungsverzögerung, antevertierte Nasenrillen (Steckkontaktase), Syndaktylie der zweiten und dritten Zehe, gelegentlich mit postaxialer Polydaktylie, Ptosis, Hypospadie und Kryptorchismus, ausgeprägte Muskelhypotonie, Mikrozephalie und Mikrognathie. Es können auch Gaumenspalten, Katarakte, epileptische Anfälle und Myelinisierungsstörungen auftreten. Die phänotypische Ausprägung kann sehr unterschiedlich sein. Sie reicht von minimalen Dysmorphien und leichter psychomotorischer Retardierung bis hin zu intrauterinem Fruchttod. Das SLOS kommt praktisch nur bei Europäern, bzw. Menschen europäischer Herkunft vor. Die Häufigkeit beträgt in Osteuropa ca. 1:20.000, in Westeuropa 1:60.000.

Biochemischer Defekt im SLOS

Dieses Fehlbildungssyndrom wird durch einen Defekt in der Cholesterinbiosynthese verursacht. Irons und Mitarbeiter (1993) konnten zeigen, dass die Cholesterinvorstufen 7- und 8-Dehydrocholesterin in Patienten mit SLOS angereichert werden und ha-

Tab 1 Frequenzen der häufigsten DHCR7-Mutationen

Mutationen	Patienten mit Smith-Lemli-Opitz-Syndrom Populationen (Häufigkeiten in %)				
	Deutsche	Italienische	Polnische	Spanische	Britische
IVS8-1G>C	20	20	< 5	30	34
W151X	18	< 5	33	< 5	< 5
V326L	18	-	23	-	< 5
R352W	7	< 5	> 6	< 5	< 5
L157P	< 5	-	> 6	-	-
T93M	< 5	45	-	23	< 7
F302L	-	-	-	10	< 5

ben daraus geschlossen, dass es sich um eine Defizienz im letzten Schritt des Kandutsch-Russell-Syntheseweges handelt. Diesen Schritt katalysiert die $\Delta 7$ -Dehydrocholesterol-Reduktase (E.C. 1.3.1.21), ein transmembranäres Protein des endoplasmatischen Retikulums. Mittels Hydrophobizitätsplot konnte ein Modell zu Struktur und Lokalisierung dieses Proteins in der Membran postuliert werden. Die Expression des Enzyms erfolgt im erwachsenen Menschen vorwiegend in der Leber, in geringerem Ausmaß in allen anderen Geweben. Besonders stark wird die $\Delta 7$ -Dehydrocholesterol-Reduktase in der fötalen Leber exprimiert (Moebius 1998). Die Patienten haben als Folge des $\Delta 7$ -Dehydrocholesterin-Reduktasedefekts einen verminderten Cholesterol- und einen erhöhten 7-Dehydrocholesterolwert im Plasma und im Gewebe. Die Quantifizierung von 7- und 8-Dehydrocholesterol mittels Gaschromatographie und Massenspektrometrie (GC/MS) wird auch zur Diagnostik des SLOS verwendet. Es ist zur Zeit noch nicht geklärt, wie diese niedrigen Cholesterolwerte und die erhöhte Konzentration der Cholesterol Vorstufen zum klinischen Phänotyp führen. Der zelluläre cholesterolabhängige SHH-Signaltransduktionsweg (sonic hedgehog) scheint dabei eine bedeutende Rolle zu spielen (Cooper 2003). Der klinische Phänotyp, im Besonderen die mentale Retardierung könnten auch durch das Fehlen von Cholesterol während der Synaptogenese hervorgerufen werden. Es wurde postuliert, dass Cholesterol der Gliazellen mittels Apo E-haltigen Lipoproteinen

von den Neuronen importiert wird, um Synapsen zu bilden (Mauch 2001).

DHCR7-Gen und SLOS-Mutationen

1998 wurde das *DHCR7*-Gen, das für die $\Delta 7$ -Dehydrocholesterin-Reduktase kodiert, kloniert (Moebius 1998). Die genomische Sequenz umfasst ungefähr 14 kb, die cDNA besteht aus 2646 Basenpaaren in 9 Exons. Der Translationsstart befindet sich im 3. Exon und das offene Leseraster kodiert für 475 Aminosäuren. Das Gen liegt auf dem langen Arm von Chromosom 11 in der Bande 11q13 (Fitzky 1998).

Bei Patienten mit SLOS kann jeweils auf dem mütterlichen und väterlichen Chromosom eine Mutation im *DHCR7*-Gen nachgewiesen werden. Die Kausalität einiger dieser Mutationen wurde nach in vitro Mutagenese und heterologer Expression in humanen Zelllinien gezeigt (Fitzky 1998). Bisher wurden über 80 verschiedene Mutationen beschrieben (Witsch-Baumgartner 2001). Diese Mutationen sind über das gesamte Gen verstreut, allerdings gibt es Regionen im Protein, die vermehrt von Mutationen betroffen sind. Ein großer Teil der SLOS kausalen *DHCR7*-Mutationen befindet sich in den postulierten transmembranären Domänen des Proteins. Außerdem sind die 4. cytoplasmatische Schleife und das C-terminale Ende des Proteins betroffen. Zusätzlich gibt es noch die Gruppe der so genannten Nullmutationen, die zu einem kompletten Funktionsverlust des *DHCR7* Proteins führen. Die häufigsten Null-

mutationen sind eine Spleißmutation, die das letzte Nukleotid in Intron 8 betrifft (IVS8-1G>C), und eine Stopmutation in Exon 6 (W151X). Diese beiden Mutationen machen gemeinsam ca. 40% der europäischen SLOS-Allele aus, wobei die Frequenz je nach Herkunft der Patienten unterschiedlich hoch sein kann (siehe Tabelle Witsch-Baumgartner 2005).

Genotyp-Phänotyp-Korrelation

Die Einteilung der unterschiedlichen Mutationen in vier Gruppen geordnet nach Lokalisierung im Protein (transmembranäre Regionen, 4. cytoplasmatische Schleife und C-terminales Ende) und Nullmutationen als 4. Gruppe und die objektive Beschreibung der äußeren Fehlbildungen in Form eines „severity scores“ (Kratz 1999) ermöglichte eine Genotyp-Phänotyp Korrelation. Dabei stellte sich heraus, dass die Nullmutationen homozygot oder compound heterozygot zu den schwersten Ausprägungen („severity score“ >50) des SLOS führen – meist zum intrauterinen Fruchttod. Zu schwerem Phänotyp führen auch Mutationen in der 4. cytoplasmatischen Schleife (4L) homozygot oder compound heterozygot in Kombination mit Nullmutationen. Eher moderat („severity score“ 25 – 50) betroffen sind Patienten mit Mutationen in transmembranären Domänen (TM) homozygot oder compound heterozygot mit Null-, 4L-, oder CT-Mutationen. Am mildesten („severity score“ <25) betroffen sind Patienten mit SLOS, die Mutationen am C-terminalen Ende (CT) homozygot oder in

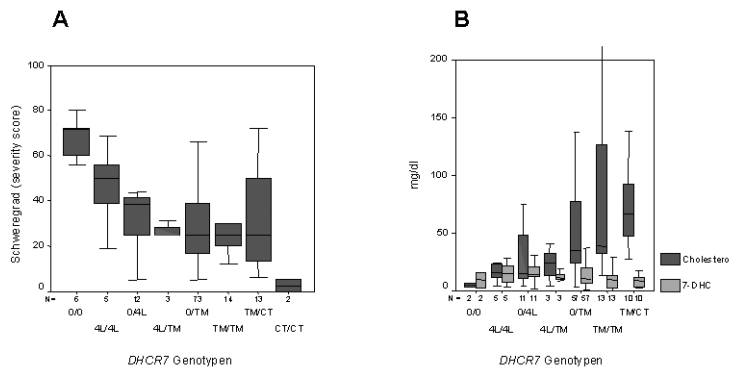


Abb 1 Genotyp-Phänotyp-Korrelation im SLOS

Es wird der statistische Zusammenhang gezeigt zwischen

- A)** den *DHCR7*-Genotypen (geordnet nach der jeweiligen Position im Protein) bei Patienten mit SLOS und dem Schweregrad der Ausprägung („severity score“)
- B)** den *DHCR7*-Genotypen bei Patienten mit SLOS und der Cholesterol-, bzw. 7-Dehydrocholesterolkonzentration.

Kombination mit TM-Mutationen tragen (Abb. 1A).

Die Reihung der Genotyp-Gruppen bezüglich der „severity scores“ korrelieren invers mit den Cholesterolwerten der Patienten mit SLOS (Abb. 1B). Diese Patienten mit zwei Nullmutationen haben die niedrigsten Cholesterolwerte, Patienten mit CT-Mutationen weisen die höchsten Werte auf (Witsch-Baumgartner 2000). Diese Einteilung der *DHCR7*-Mutationen in Gruppen und ihre Korrelation mit dem Cholesterolwert erklärt 29% der Varianz des logarithmischen Cholesterolwertes. Das heißt, andere Faktoren müssen bei dieser Variabilität der Cholesterolwerte in Patienten mit SLOS und der unterschiedlich starken Ausprägung dieses Syndroms noch eine Rolle spielen. Dafür spricht einiges, denn die Einteilung der Mutationen in diese Gruppen wurde nur nach dem Proteinmodell, beruhend auf einem Hydrophobizitätsplot, vorgenommen. Genauere Aussagen könnten wahrscheinlich getroffen werden, wenn die Mutationen nach ihren funktionellen Konsequenzen eingeteilt werden könnten. Trotzdem ist davon auszugehen, dass nur ein Teil der phänotypischen Variabilität des SLOS durch die allelische Heterogenität am *DHCR7*-Locus erklärt werden kann.

Cholesterol und Embryogenese

Das Cholesterol spielt während der Embryogenese eine große Rolle bei der Entstehung des SLOS (Cunniff 1997). Es konnte gezeigt werden, dass die Holoprosenzephalie, die

auch mit dem SLOS assoziiert sein kann, durch verschiedene Defekte der Cholesterolbiosynthese oder des Cholesteroltransports hervorgerufen werden kann. Solche Defekte betreffen die Inhibierung der 3 β -Hydroxysteroid- Δ 7-Reduktase, die Zerstörung des Megalin/gp330-Gens, die Deletion von Apolipoprotein B und auch Mutationen im „sonic hedgehog“-Gen (SHH-Gen). Die Bindung von Cholesterol an das SHH-Protein ist der aktivierende Faktor der SHH-Signalkaskade. Man vermutet dass, die SHH-Signalkaskade während der Embryonalentwicklung sehr unterschiedliche Funktionen übernimmt, etwa bei der Ausbildung des ZNS und der Extremitäten. Die Versorgung des wachsenden Embryos mit Cholesterol erfolgt üblicherweise über die endogene Biosynthese und über exogene Quellen, d. h. den Transport von Lipoproteinen von der Mutter (Abb. 2). Folglich könnten genetische Unterschiede im Steroltransportsystem von Mutter oder Kind den Phänotyp des SLOS beeinflussen. Bisher ist wenig über die Mechanismen des Cholesteroltransports von Mutter zum Embryo bzw. Fetus bei Menschen bekannt.

Mittels Studien in Apo B-knockout-Mäusen konnte gezeigt werden, dass Apolipoprotein B und Lipoproteinrezeptoren wesentlich an diesen Transportmechanismen beteiligt sind (Farese 1995). Dass dem Cholesterol während der Embryonalentwicklung eine wichtige Funktion zukommt, zeigt sich daran, dass die LDL-Konzentration der mütterlichen Tiere die

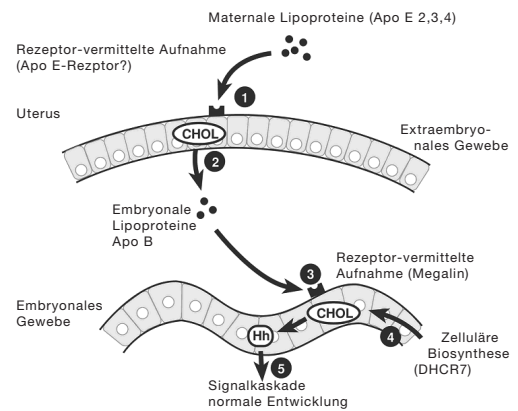


Abb 2 Vereinfachtes Modell über den möglichen Einfluss von Apolipoprotein E auf den maternal-embryonalen Cholesteroltransport.

Patienten mit SLOS mit defekter Cholesterolbiosynthese sind abhängig vom maternalen Cholesteroltransport. Apo E-Isoformen haben unterschiedliche Bindungsaffinitäten zu den spezifischen Rezeptoren, daher hängt die Effizienz des Cholesteroltransports vom maternalen Apo E-Genotyp ab. Schematische Darstellung nach Herz J, Willnow TE, Farese RV. Cholesterol, hedgehog and embryogenesis. Nat Genet 15:123-4, 1997.

Größe ihrer Föten beeinflusst (McConihay 2001).

Apolipoprotein E

Apolipoprotein E (Apo E) ist ein Bestandteil von Lipoproteinen in Plasma und Körperflüssigkeiten. Möglicherweise ist es auch ein Bestandteil des Cholesteroltransports zwischen Mutter und Embryo bzw. Fötus. Apo E zeichnet sich durch einen genetischen Polymorphismus mit drei häufigen Allelen, e2, e3 und e4, aus. Diese Allele unterscheiden sich durch Basensubstitutionen in zwei Kodons des Apo E-Gens, die zum Austausch von Aminosäuren an den Positionen 112 (Cystein zu Arginin) und 158 (Arginin zu Cystein) im Apo E-Protein führen. Apolipoprotein E wirkt weiter als Ligand, der an der rezeptorvermittelten Aufnahme von Cholesterol durch unterschiedliche Zelltypen und Gewebe beteiligt ist. Es ist auch an speziellen Prozessen beteiligt, wie Lymphozytenaktivierung, Cholesterolhomöostase in Makrophagen und neuraler Plastizität (Mauch 2001). Die verschiedenen Apo E-Isoformen (E2, E3, E4), die auf den Allelen e2, e3 und e4 beruhen, unterscheiden sich durch ihre Bindungsaffinitäten zu Lipoproteinrezeptoren und üben einen starken Einfluss auf die Plasmacholesterolkonzentration aus. Während Apo E2 eine schwächere Affinität zum Apo B/E-Rezeptor zeigt, hat Apo E4 eine stärkere Bindung als der Wildtyp Apo E3. Die unterschiedlichen Funktionen des Apolipoproteins E erklären dessen Beteiligung an verschiedenen Erkrankungen wie Dyslipidämien, athe-

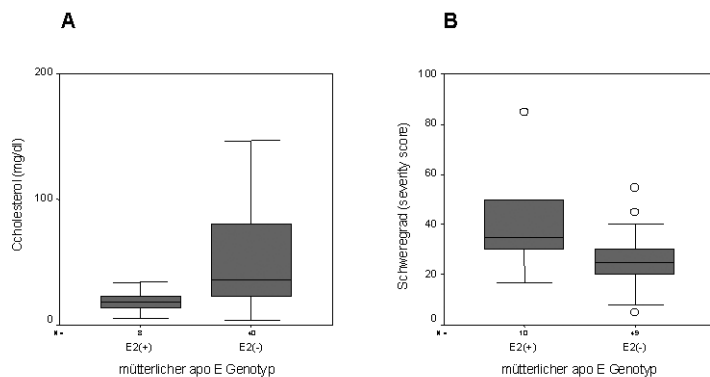


Abb 3 Einfluss von Apo E auf das SLOS

Deutlich wird der signifikante Unterschied zwischen
A) den maternalen Apo E-Genotypen (mit E2 und ohne E2) im Hinblick auf die Cholesterolkonzentrationen bei Patienten mit SLOS ($p=0.006$, Mann-Whitney U Test) und
B) den maternalen Apo E-Genotypen (mit E2 und ohne E2) im Hinblick auf den Schweregrad der Ausprägung („severity score“) ($p=0.029$).

Unterschiede in der Anzahl der untersuchten Personen zwischen der Abbildung **A** und **B** kommen dadurch zustande, dass nicht von allen Patienten Cholesterolverte vorliegen.

rosklerotischen Erkrankungen und Alzheimer-Erkrankung.

Apo E und SLOS

Nach Analyse des Apo E-Genotyps bei mehr als 50 Familien mit SLOS zeigte die statistische Auswertung einen deutlichen Zusammenhang des Schweregrades der Ausprägung des SLOS und der Plasmacholesterolverte der Patienten mit SLOS mit dem Apo E-Genotyp der Mutter (Abb. 3). Es wurde hingegen keine Assoziation mit dem Apo E-Genotyp der Kinder oder deren Väter gefunden (Witsch-Baumgartner 2004). Der heranwachsende Embryo ohne funktionstüchtige $\Delta 7$ -Sterol-Reduktase benötigt das Cholesterin von seiner Mutter. Dass Apo E wahrscheinlich eine Rolle beim embryonalen Cholesteroltransport von Mutter zu Kind spielt, erklärt möglicherweise den Einfluss der Apo E-Genotypen auf die Ausprägung des SLOS. Bestimmte Apo E-Genotypen der Mutter, oder das Fehlen von Apo E führen weder beim Menschen noch bei Nagern zu irgendwelchen Fehlbildungen. Bei Patienten mit SLOS steht der SLOS-Phänotyp in einem statistisch signifikantem Zusammenhang mit dem Krankheitsbild. Patienten mit SLOS von jenen Müttern, die mindestens ein Apo E2-Allel besitzen, zeigen signifikant niedrigere Cholesterolverte und höhere „severity scores“ als Patienten von Müttern ohne E2 (Abb. 3). Im Kontext einer prinzipiell gestörten Cholesterolsynthese gewinnt ein weiterer unabhängiger genetischer Faktor, hier Apo E, für die Ausprägung einer monogenen Erkrankung an Bedeutung. Im Durchschnitt

haben heterozygote E2-Träger um 15mg/dl niedrigere Cholesterolkonzentrationen als die durchschnittliche Bevölkerung, während E4-Heterozygote um 5-10mg/dl über dem Durchschnittswert liegen. Man vermutet daher, dass Apo E am Cholesteroltransport von der Mutter zum Embryo bzw. Fötus beteiligt ist. Diese Annahme wird unterstützt durch die Beobachtung, dass die Apo E-mRNA in den Chorionzotten und der Plazenta vermehrt vorhanden ist ebenso wie jene speziellen Rezeptoren in Plazenta und neuroepithelalem Gewebe die Apo E binden (Overbergh 1995).

Bedeutung von Apolipoprotein E für Diagnostik, Prognose und Therapie des SLOS

Bei Patienten mit SLOS zeigt sich ein eindeutiger Zusammenhang zwischen dem Apo E-Genotyp der Mutter und dem Schweregrad der Erkrankung und auch dem Plasmacholesterolverte der Patienten mit SLOS. Allerdings ist dieser Apo E nur ein „modifizierender“ Faktor eines Phänotyps, der in erster Linie durch die Mutationen im *DHCR7*-Gen bestimmt wird. Das bedeutet, dass Apo E hinsichtlich SLOS keinerlei diagnostische Bedeutung hat. Auch der prognostische Wert eines Apo E-Genotyp Befundes bei der Mutter ist gering und lässt nur in sehr geringem Ausmaße eine Aussage über den Schweregrad des SLOS beim einzelnen Patienten zu. Die Bedeutung von Apo E wurde mittels statistischer Analysen gefunden, die darauf beruhen, dass sehr viele „SLOS“-Familien untersucht wurden. Fast jeder Patient mit SLOS trägt einen an-

deren *DHCR7*-Genotyp und dieser ist maßgeblich für die Ausprägung mitverantwortlich. Man würde den Apo E-Genotyp also bei einer so schwerwiegenden Erkrankung wie dem SLOS nicht in die Beratung einfließen lassen, mit der Aussage, dass es dem Kind, falls die Mutter zum Beispiel kein Apo E2-Allel aufweist, etwas besser gehen könnte, als einem anderen mit den gleichen *DHCR7*-Mutationen.

Die Therapie des SLOS erfolgt derzeit vor allem über Cholesterolsubstitution und eventuell einer Simvastatin-Behandlung mit dem Ziel, zum einen fehlendes Cholesterin zuzuführen und zum anderen die Produktion an Cholesterolvorstufen 7- und 8-Dehydrocholesterin durch Inhibierung der HMGCoA-Reduktase einzudämmen. Die postnatale Cholesterolsupplementierung ändert nichts mehr an den Fehlbildungen, sie führt aber zu einem verbesserten Wachstum der Patienten und die psychosozialen Defizite werden etwas gemildert. Die Patienten entwickeln sich besser, sind offensichtlich nicht so aggressiv und zeigen ein sozialeres Verhalten (Kelley 1998). Über Cholesteroltherapien bei der Mutter während der Schwangerschaft gibt es nur einzelne Publikationen, die bisher keine generelle Aussage erlauben.

Schlussbemerkungen

Kenntnisse über beteiligte Faktoren der Cholesterolsynthese, über Cholesteroltransportwege von Mutter zu Kind und über die Funktionen von Cholesterin während der Embryoge-

nese können unter anderem durch die Aufklärung weiterer modifizierender Faktoren gewonnen werden. Auf der Basis dieser Grundlagenforschung könnte es in Zukunft gelingen, kausale Therapieformen zu entwickeln, die das für die normale Entwicklung des Embryos essentielle Cholesterol möglichst optimal und in ausreichender Menge dem Embryo mit SLOS zur Verfügung stellen.

Literatur

Cooper MK, Wassif CA, Krakowiak PA, Taipale J, Gang R, Kelley RI, Porter FD, Beachy PA. A defective response to Hedgehog signaling in disorders of cholesterol biosynthesis. *Nat Genet* 33:508-519, 2003

Cunniff C, Kratz LE, Moser A, Natowicz MR, Kelley RI. Clinical and biochemical spectrum of patients with RSH/Smith-Lemli-Opitz syndrome and abnormal cholesterol metabolism. *Am J Med Genet* 68:263-9, 1997

Farese RV, Ruland SL, Flynn LM, Stokowski RP, Young SG. Knockout of the mouse apolipoprotein B gene results in embryonic lethality in homozygotes and protection against diet-induced hypercholesterolemia in heterozygotes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92:1774-8, 1995

Fitzky BU, Witsch-Baumgartner M, Erdel M, Lee JN, Paik YK, Glossmann H, Utermann G, Moebius FF. Mutations in the Delta7-sterol reductase gene in patients with the Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:8181-6, 1998

Irons MB, Elias ER, Salen G, Tint GS, Batta AK. Defective cholesterol biosynthesis in Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Lancet* 341:1414, 1993

Kelley RI. RSH/Smith-Lemli-Opitz syndrome: mutations and metabolic morphogenesis. *Am J Hum Genet* 63:322-6, 1998

Kratz LE, Kelley RI. Prenatal diagnosis of the RSH/Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Am J Med Genet* 82:376-81, 1999

Mauch DH, Nagler K, Schumacher S, Goritz C, Muller EC, Otto A, Pfrieger FW. CNS synaptogenesis promoted by glia-derived cholesterol. *Science* 294:1354-7, 2001

McConihay JA, Horn PS, Woollett LA. Effect of maternal hypercholesterolemia on fetal streol metabolism in the Golden Syrian hamster. *J Lipid Res* 42:1111-9, 2001

Moebius FF, Fitzky BU, Lee JN, Paik YK, Glossmann H. Molecular cloning and expression of the human delta7-sterol reductase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 98:1899-902, 1998

Overbergh L, Lorent K, Torrekens S, Van Leuven F, Van den Berghe H. Expression of mouse alpha-macroglobulins, lipoprotein receptor-related protein, LDL receptor, apolipoprotein E, and lipoprotein lipase in pregnancy. *J Lipid Res* 36:1774-86, 1995

Smith D, Lemli L, Opitz J. A newly recognized syndrome of multiple congenital anomalies. *J Pediatr* 64:210-217, 1964

Witsch-Baumgartner M, Loffler J, Utermann G. Mutations in the human *DHCR7* gene. *Hum Mutat* 17:172-82, 2001

Witsch-Baumgartner M, Gruber M, Kraft HG, Rossi M, Giros M, Haas D, Kelley RI, Krajewska-Walasek M, Utermann G. Maternal apo E genotype is a modifier of the Smith-Lemli-Opitz syndrome. *J Med Genet* 41:577-84, 2004

Witsch-Baumgartner M, Clayton P, Clusellas N, Haas D, Kelley RI, Krajewska-Walasek M, Lechner S, Rossi M, Zschocke J, Utermann G. Identification of 14 novel mutations in the *DHCR7* gene causing the Smith-Lemli-Opitz syndrome and delineation of the *DHCR7* mutational spectrum in Spain and Italy. *Hum Mutat* 25:412, 2005

Korrespondenzadresse

Dr. Martina Witsch-Baumgartner
 Department für Medizinische Genetik,
 Molekulare und Klinische Pharmakologie
 Medizinische Universität Innsbruck
 Schöpfstrasse 41
 A-6020 Innsbruck
 Tel. ++43 512 507 3462
 Fax ++43 512 507 2861
 witsch-baumgartner@uibk.ac.at