

Maladies de Gaucher et de Fabry : aspects biochimiques et génétiques

par Catherine Caillaud & Livia Poenaru

Laboratoire de Génétique (AP-HP, Université Paris V), Département GDPM (INSERM), Institut Cochin, 24, rue du faubourg Saint-Jacques, Paris, 75014 France. Email : caillaud@cochin.inserm.fr

Reçu le 15 février 2002

RÉSUMÉ

Les maladies de Gaucher et de Fabry sont des maladies de surcharge lysosomale dues respectivement au déficit de la glucocérébrosidase et de l' α galactosidase. La maladie de Gaucher, transmise sur le mode autosomique récessif, est plus fréquente dans la population juive ashkénaze. Le clonage du gène a permis la caractérisation de quelques mutations plus fréquentes dont certaines ont une valeur pronostique, en faveur soit du type 1 non neurologique, soit des types 2 et 3 plus sévères. Ces mutations représentent environ 70 % des allèles, les 30 % restants corres-

pondant à des mutations privées. La maladie de Fabry a quant à elle un mode de transmission récessif lié à l'X. Le dépistage des femmes conductrices est donc essentiel pour le conseil génétique dans les familles à risque. Le gène de l' α galactosidase fait l'objet de nombreuses mutations, ne permettant pas l'établissement de corrélations phénotype-génotype fiables. Ces deux maladies, bien caractérisées au plan biochimique et génétique, constituent un modèle parmi les maladies héréditaires pour le développement de thérapies spécifiques.

SUMMARY Gaucher and Fabry's diseases: biochemical and genetic aspects

Gaucher and Fabry's diseases are lysosomal storage disorders. They are due to a glucocerebrosidase or α galactosidase deficiency, respectively. Gaucher disease, transmitted as an autosomal recessive trait, is frequent among Ashkenazi Jews. Cloning of the gene has allowed the characterisation of few common mutations. Some of them have a prognosis value, in favour of either a non neurological form (type 1) or more severe forms (types 2 and 3). These mutations were found in 70 % of the alleles, the other alleles car-

rying private mutations. Fabry disease is transmitted as an X-linked recessive trait. Genetic counselling in at-risk families relies on the detection of carrier females. As the α galactosidase gene shows various mutations, the establishment of phenotype-genotype correlations is limited. These two diseases, well defined at the biochemical and genetic level, are good models of inherited diseases for the development of specific therapies.

Les maladies de Gaucher et de Fabry sont des affections héréditaires du métabolisme. Elles appartiennent au groupe des maladies lysosomales, qui sont des enzymopathies de surcharge, dues chacune au déficit d'une enzyme intervenant dans le catabolisme de divers types de macromolécules (Poenaru, 1994 ; Gieselmann, 1995). Ces deux maladies, qui sont des sphingolipidoses (anomalies du métabolisme des lipides), sont actuellement bien caractérisées, tant sur le plan clinique que biochimique. Le clonage des gènes correspondants a permis d'une part la caractérisation des anomalies moléculaires présentes chez les patients, facilitant ainsi le conseil

génétique des familles à risque, et d'autre part le développement de thérapies spécifiques efficaces.

MALADIE DE GAUCHER

Cette maladie est due au déficit de la glucocérébrosidase ou β glucosidase acide assurant la dégradation du glucosylcéramide (ou glucocérébroside) en céramide et glucose (Fig. 1). L'absence de cette enzyme (ou son inactivité) entraîne une accumulation du substrat dans les

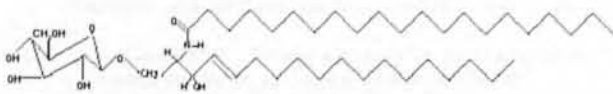


FIG. 1. – Glucocérébroside (D-glucosylcéramide) glycolipide accumulé dans la maladie de Gaucher.

cellules du système réticulo-endothélial, principalement dans les macrophages. Les cellules typiques de la maladie, appelées « cellules de Gaucher », sont des histiocytes surchargés de lipides, dont le cytoplasme a un aspect strié caractéristique (Beutler & Grabowski, 1995).

Mode de transmission et épidémiologie

La maladie de Gaucher a un mode de transmission autosomique récessif. Chez les caucasiens, sa fréquence est de l'ordre de 1/60 000 à 1/100 000. Elle présente une préférence ethnique particulière, notamment dans la population juive ashkénaze, avec une incidence de 1/1500 naissances, voire 1/450 dans certaines études (Zimran *et al.*, 1991). Dans ce groupe, elle est la maladie lysosomale la plus fréquente. D'autre part, le type 3 de la maladie est trouvé avec une plus grande prépondérance chez les Norbottniens, un isolat génétique du nord de la Suède (Dahl *et al.*, 1993).

Clinique

On distingue trois formes cliniques principales de la maladie, en fonction de la rapidité d'évolution et de l'implication ou non du système nerveux central (Beutler & Grabowski, 1995). Le type 1, dit chronique non neurologique, est le plus fréquent. Il se caractérise par l'existence d'une volumineuse hépatosplénomégalie, associée à une pancytopénie, ainsi qu'à des signes osseux à type d'ostéopénie, d'ostéonécrose, de douleurs, de fractures qui font toute la gravité de la maladie par leur retentissement fonctionnel. Cette forme clinique peut débuter à des âges très variables, de l'enfance à l'âge adulte. Elle présente une grande hétérogénéité phénotypique, allant de formes sévères entraînant le décès dans les premières décennies, jusqu'à des formes quasiment asymptomatiques dont le diagnostic est fait fortuitement.

Le type 2, aigu neurologique, est le plus grave mais aussi le plus rare. Il débute très précocement dès les premiers mois de la vie, par une hépatosplénomégalie, des signes oculaires à type de strabisme ou de paralysie oculomotrice. L'atteinte neurologique est sévère avec une hypertonicité, une rétroflexion des muscles du cou, un trismus, une rigidité des membres, des convulsions. Le décès survient généralement avant l'âge de deux ans.

Enfin, le type 3 dit subaigu neurologique, est de sévérité intermédiaire entre les deux autres types (Brady *et al.*, 1993). L'âge de début est précoce, entre un et cinq ans. La maladie débute par une atteinte viscérale, les signes neurologiques apparaissant ultérieurement, le plus souvent avant 10 ans. Le premier symptôme neurologique est habituellement une anomalie de la motricité oculaire, puis surviennent d'autres signes, notamment une ataxie. Le

type 3 décrit dans la population norbottnienne se caractérise par une forme systémique agressive et une atteinte neurologique variable, lentement progressive.

Diagnostic

Le diagnostic de maladie de Gaucher repose sur la mise en évidence du déficit en glucocérébrosidase. L'enzyme étant ubiquitaire, le dosage peut être réalisé aisément sur un simple prélèvement sanguin. Il utilise généralement un substrat artificiel, le 4 méthylumbelliféryl- β -D-glycopyranoside, permettant la mesure de l'activité glucocérébrosidase *in vitro* (Beutler *et al.*, 1970). Chez les patients, l'activité enzymatique est généralement inférieure à 15 %. Il est à noter qu'un variant existe, dû au déficit non pas de l'enzyme, mais de son activateur appelé SAP 2 (ou saposine C) (Schnabel *et al.*, 1991). Il s'agit d'une forme très rare.

Des marqueurs sériques de la maladie ont également été décrits, pouvant apporter des éléments diagnostiques complémentaires (Aerts & Hollak, 1997). L'enzyme de conversion de l'angiotensine est le plus souvent élevée chez les patients, avec des variations interindividuelles pouvant aller jusqu'à plus de 10 fois la valeur des témoins. La phosphatase acide tartrate-résistante est également augmentée dans le sérum des patients, notamment l'isoenzyme 5B. Enfin, plus récemment, la chitotriosidase a été décrite comme étant un nouveau marqueur de la maladie (Hollak *et al.*, 1994). En effet, cette enzyme peut atteindre des activités sériques spectaculaires (jusqu'à 600 fois les valeurs des témoins) chez les patients symptomatiques. Cette enzyme constitue un excellent marqueur diagnostique de la maladie : elle est le témoin de la surcharge macrophagique. Son activité régresse sous l'effet du traitement substitutif, ce qui en fait un excellent outil pour le suivi thérapeutique. Il est à noter que certains patients atteints d'autres maladies lysosomales peuvent présenter une élévation de la chitotriosidase, mais dans des valeurs beaucoup plus modestes (Guo *et al.*, 1995).

Conseil génétique

Le dépistage des sujets hétérozygotes pour la maladie est souvent demandé par les apparentés de malades inquiets pour leur descendance. Ce dépistage est généralement difficile par dosage enzymatique, du fait d'un chevauchement possible entre les activités des sujets normaux et des hétérozygotes dans la population générale. Une étude en biologie moléculaire peut être proposée, quelques mutations communes étant recherchées en priorité. Ceci a principalement de l'intérêt dans les populations à risque, comme les juifs ashkénazes. Chez les non juifs, ce type d'analyse est limité par la grande hétérogénéité des mutations (en dehors des quelques anomalies génétiques fréquentes).

Pour les couples hétérozygotes reconnus, le risque de transmettre la maladie est de 1/4 à chaque grossesse. Un diagnostic prénatal peut leur être proposé. Il consiste dans le dosage de l'activité β glucosidase dans les villosités.

sités choriales prélevées vers 10-11 semaines de grossesse. Plus rarement, il peut être réalisé sur des cellules amniotiques cultivées, mais avec l'inconvénient d'une réponse plus tardive (prélèvement vers 14-15 semaines, suivi de deux semaines de culture). Le diagnostic prénatal de la maladie de Gaucher est essentiellement demandé par les couples ayant eu des enfants atteints de formes neurologiques de la maladie.

Biologie moléculaire

* Gène de la β glucosidase (GBA)

Ce gène est situé sur le chromosome 1 en q21 (Ginns *et al.*, 1985). Il est constitué de 11 exons répartis sur 7604 pb (Horowitz *et al.*, 1989). Il est transcrit en un ARNm de 2,5 kb (Tsuji *et al.*, 1986). Il code pour une protéine de 516 acides aminés, qui est associée aux membranes. Un pseudogène de 5 kb a été mis en évidence 16 kb en aval du gène fonctionnel. Ils ont tous deux une très forte homologie (96 %), liée vraisemblablement à une origine ancestrale commune.

* Caractérisation des mutations chez les patients atteints de maladie de Gaucher

De nombreuses mutations ont été mises en évidence dans le gène de la glucocérébrosidase (<http://archive.uwcm.ac.uk/uwcm/mg/hgmd0.html>). Certaines d'entre elles ont une fréquence assez grande, variable selon les populations étudiées, d'autres plus nombreuses sont des mutations privées.

Des études moléculaires ont été réalisées chez des patients français, parmi lesquels 90 % présentaient un type 1, les types 2 et 3 étant beaucoup plus rares (4 et 6 % respectivement). Quelques mutations communes ont été étudiées : il s'agit de la mutation N370S, connue comme étant peu délétère (Tsuji *et al.*, 1988), et des mutations L444P et 84GG, plus sévères. Des allèles dits complexes, recNcil et recTL, ont également été recherchés : il s'agit d'allèles dus à des recombinaisons avec le pseudogène et impliquant la mutation L444P (Hong *et al.*, 1990 ; Zimran & Horowitz, 1994). Les résultats de cette étude sont donnés dans la figure 2A. Chez les patients français, deux mutations sont prépondérantes, N370S et L444P, représentant à elles seules plus de 60 % des allèles. Les autres mutations sont relativement rares, à l'exception de l'un des allèles complexes recNcil (6 %). Au total, 70 % des allèles ont pu être identifiés par l'étude de quelques mutations communes. Les allèles non caractérisés correspondent habituellement à des mutations privées (Germain *et al.*, 1998).

Par comparaison avec les résultats précédents, une étude réalisée dans la population ashkénaze montre une plus grande fréquence de la mutation N370S, représentant à elle seule plus de 70 % des allèles (Fig. 2B). La deuxième mutation fréquente est la 84GG, alors que la mutation L444P est peu représentée. La mutation 84GG est connue comme étant spécifiquement ashkénaze, ceci étant dû à un effet fondateur (Beutler *et al.*, 1991). Au total, près de 90 % des allèles ont pu être caractérisés par

A - Patients français

Mutation	Allèles	
	Nombre	%
N370S	92	43,4
L444P	36	17
R463C	2	0,9
84GG	4	1,9
D409H	2	0,9
recNcil	12	5,7
recTL	1	0,5
inconnue	63	29,7
Allèles identifiés	149	70,3%

B - Patients juifs ashkénazes

Mutation	Allèles	
	Nombre	%
N370S	643	71,2
84GG	101	11,2
L444P	32	3,5
IVS2	19	2,1
rec	16	1,8
inconnue	92	10,2
Allèles identifiés	903	89,8 %

FIG. 2. – Fréquence des mutations communes dans la maladie de Gaucher :

A - dans la population française (patients étudiés dans le laboratoire de Génétique, Hôpital Cochin, Paris, France, données non publiées).

B - chez les juifs ashkénazes (selon Grabowski *et al.*, 1996).

Note : Composition des allèles complexes :

recNcil = L444P + A456P + V460V

recTL = L444P + A456P + V460V + D409H

l'étude de quelques mutations communes, montrant une plus grande homogénéité par rapport à la population française.

* Corrélations phénotype-génotype

Quelques corrélations phénotype-génotype ont pu être établies dans notre étude. Elles sont en accord avec celles communément admises. La mutation N370S est clairement la plus fréquente chez les patients français et elle est toujours associée à un type 1 de la maladie. Chez les hétérozygotes composites, la sévérité clinique de la maladie varie selon le type d'allèle associé à la mutation N370S. Dans tous les cas, la présence de l'allèle N370S, qu'il soit à l'état homozygote ou hétérozygote, permet d'exclure la survenue de signes neurologiques, confirmant le caractère « bénin » de cette mutation (Zimran *et al.*, 1989).

À l'inverse, les mutations L444P et recNcil sont des mutations sévères. Leur présence à l'état hétérozygote peut être associée aux types 1, 2 ou 3 de la maladie, selon la gravité de la mutation présente sur l'autre allèle. Par contre, leur présence à l'état homozygote est habituellement associée à la survenue de signes neurologiques (types 2 et 3), bien que certains patients japonais porteurs de ce génotype aient été rapportés comme étant atteints



de type 1 de la maladie (Masuno *et al.*, 1990). Ceci montre l'hétérogénéité génétique de cette affection et la possible intervention d'autres facteurs génétiques (gènes modificateurs, ...) ou environnementaux dans l'expression phénotypique de la maladie.

MALADIE DE FABRY

Cette affection est due au déficit de l' α -galactosidase A, enzyme qui clive les résidus α -galactosyl du globotriaosylcéramide (Gb3) ou céramide trihexoside et d'autres glycosphingolipides neutres (Fig. 3). Chez les patients, ces substrats non dégradés s'accumulent progressivement dans les lysosomes de différents tissus (cœur, rein, œil, ...), ainsi que dans le plasma et les urines (Desnick *et al.*, 2001).

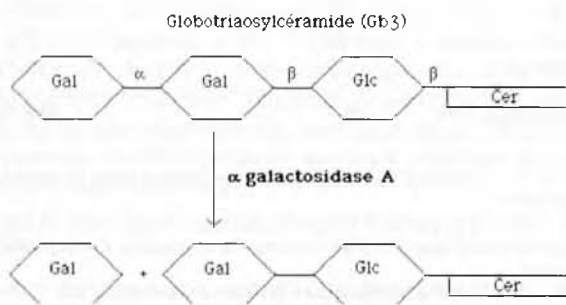


FIG. 3. – Mode d'action de l' α -galactosidase A sur son substrat majoritaire, le globotriaosylcéramide (Gb3).

L' α -galactosidase clive un résidu galactose terminal du Gb3. En cas de déficit de l' α -galactosidase, le Gb3 s'accumule, principalement dans le cœur, le rein, le cerveau.

Mode de transmission et épidémiologie

Contrairement à la maladie de Gaucher, la maladie de Fabry a un mode de transmission récessif lié à l'X. C'est une maladie rare, son incidence ayant été estimée aux alentours de 1/120 000 naissances (Meikle *et al.*, 1999). Il n'existe pas de prédisposition ethnique particulière.

Clinique

Chez les hémizygotés atteints, la maladie débute habituellement pendant l'enfance ou l'adolescence, mais elle peut survenir également plus tardivement. Elle se manifeste par la survenue de crises douloureuses des extrémités (paresthésies) et par l'apparition de lésions vasculaires à type d'angiokératomes. Il s'y associe des opacités cornéennes et une hypohydrose (Desnick *et al.*, 2001). Au cours de l'évolution, surviennent des complications en relation avec les dépôts de glycosphingolipides dans les vaisseaux des différents organes, pouvant mettre en jeu le pronostic vital. Il peut s'agir d'une atteinte car-

diaque de type ischémie, infarctus, d'accidents vasculaires transitoires, voire d'hémiplégie et d'une atteinte rénale conduisant à l'insuffisance terminale et à la dialyse.

En dehors de cette forme classique, existe un variant dit cardiaque caractérisé par la survenue tardive de signes cardiaques à type de cardiomyopathie hypertrophique, après une longue phase asymptomatique (absence de paresthésies, d'angiokératomes et d'opacités cornéennes) (Nagao *et al.*, 1991).

Les femmes conductrices de la maladie sont le plus souvent asymptomatiques. Cependant, certaines d'entre elles peuvent avoir une forme atténuée de la maladie, voire une forme aussi sévère que celle des hémizygotés. Le signe le plus fréquemment retrouvé chez elles est la présence d'opacités cornéennes.

Diagnostic

Chez les hémizygotés, la confirmation diagnostique passe par la mise en évidence du déficit en α galactosidase. Le dosage, réalisé classiquement sur leucocytes à l'aide d'un substrat fluorescent spécifique, est rapide et fiable (Mayes *et al.*, 1981). Il est possible également de montrer l'accumulation de globotriaosylcéramide (Gb3) dans le plasma et les urines, mais ceci nécessite des techniques plus complexes. Enfin, le diagnostic pourra être confirmé par l'étude moléculaire permettant de caractériser la mutation responsable de la maladie.

Conseil génétique

La maladie de Fabry ayant une transmission récessive liée à l'X, elle atteint principalement les garçons (Fig. 4). Le dépistage des femmes conductrices susceptibles de transmettre la maladie est donc essentiel pour le conseil génétique des familles à risque. En effet, ces femmes ont un risque de 1/2 de transmettre la maladie à leurs garçons. D'autre part, il est à noter que, dans la descendance d'un homme atteint, tous les garçons seront exempts de la maladie, mais toutes les filles seront conductrices, ayant reçu l'X atteint de leur père.

Le dépistage des femmes conductrices est habituellement peu fiable par dosage enzymatique, ceci du fait de l'inactivation au hasard de l'un des X chez la femme (Lyon, 1961). Ainsi, les activités α galactosidase peuvent s'échelonner entre un déficit et une valeur normale, ceci

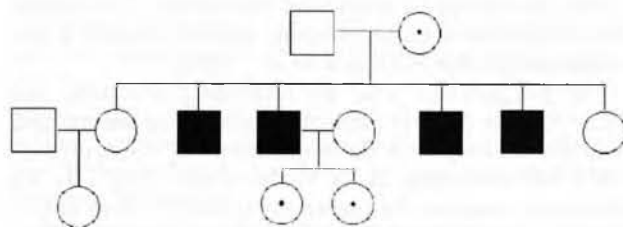


FIG. 4. – Arbre généalogique d'une famille dans laquelle se transmet la maladie de Fabry. \odot Femme conductrice ■ Homme atteint

même chez une conductrice obligatoire. Le dosage du Gb3 plasmatique ou urinaire peut apporter un argument, montrant une élévation cependant inférieure à celle des hémizygotés. Seule, l'étude moléculaire est la méthode de choix pour la caractérisation du statut de conductrice. L'idéal est de caractériser en premier lieu la mutation chez un garçon atteint, puis de la rechercher chez les femmes apparentées. En l'absence de garçon atteint dans la famille, le statut des femmes cliniquement suspectes de maladie de Fabry ne sera définitivement confirmé que par l'étude moléculaire.

En cas de désir de grossesse, un diagnostic prénatal pourra être proposé aux femmes conductrices. Cet examen sera réalisé après diagnostic de sexe, par le dosage de l' α -galactosidase dans les villosités chorales et/ou par la recherche de la mutation familiale.

Biologie moléculaire

* Gène de l' α galactosidase (GLA)

Le gène de l' α galactosidase est situé sur le chromosome X en q22 (Vetrie *et al.*, 1993). Il est constitué de 7 exons répartis sur 12 kb (Bishop *et al.*, 1988; Kornreich *et al.*, 1989). Il se caractérise par l'absence de région 3' non codante. Il est transcrit en un ARNm de 1,4 kb (Bishop *et al.*, 1986), qui code pour une protéine de 398 acides aminés. L'enzyme produite est transportée par la voie du mannose-6-phosphate, utilisée par la plupart des enzymes lysosomales. Le gène de l' α galactosidase appartient à une famille de gènes homologues comprenant aussi celui de l' α -galactosidase B, situé quant à lui sur le chromosome 22 (Wang *et al.*, 1991).

* Caractérisation des mutations chez les patients atteints de maladie de Fabry

Plus de 200 mutations ont été mises en évidence dans le gène de l' α galactosidase. Il s'agit principalement de mutations faux-sens ou non-sens ou bien de petites délétions ou insertions. Les grands réarrangements à type de délétions partielles ou de duplications sont rares (5 à 10 %). Aucune délétion complète du gène n'a été rapportée.

Dans notre étude faite chez des patients français, les mutations se regroupent de la façon suivante : faux-sens (45 %), petites délétions (28 %), non-sens (14 %), épissage (10 %), insertion d'1 pb (3 %) (Azibi *et al.*, données non publiées). Aucun grand réarrangement n'a été retrouvé.

* Corrélations phénotype-génotype

Les patients français atteints de maladie de Fabry présentent pour la plupart une forme classique de la maladie associée à une mutation privée, dont la valeur pronostique est difficile à évaluer, en l'absence d'étude d'expression (Germain *et al.*, 1996).

Dans la littérature, quelques mutations ont été rapportées comme associées au variant cardiaque. Il s'agit des mutations R112H, R301Q, G328R et Q279E que l'on pourrait considérer comme peu délétères, une activité enzymatique résiduelle ayant été décrite dans ce variant.

Il est à noter que la mutation R301Q a également été retrouvée chez un patient français atteint d'une forme classique de la maladie, montrant les limites des corrélations phénotype-génotype dans cette affection (Germain *et al.*, 1999). Les autres mutations n'ont pas été retrouvées dans notre étude, sauf sous la forme de variants au même codon (R112C, Q279H), associés là encore à des formes classiques.

CONCLUSION

Les maladies de Gaucher et Fabry, bien que différentes par de nombreux aspects, ont la particularité d'être bien caractérisées tant sur le plan clinique que biochimique et génétique. Ceci a permis, au cours des dernières années, de créer les modèles murins correspondants et de développer des thérapies spécifiques, notamment des traitements substitutifs qui semblent avoir déjà démontré leur efficacité (Germain *et al.*; Belmatoug *et al.* dans ce même numéro). Il reste maintenant à mettre au point des méthodes thérapeutiques plus définitives, telles que la thérapie génique.

BIBLIOGRAPHIE

- Aerts J. M. F. G. & Hollak C. E. M., Plasma and metabolic abnormalities in Gaucher's disease. in *Clinical Haematology*, vol. 10 : Gaucher's disease, Ed. A. Zimran, Bailliere Tindall, 1997, 691-709.
- Beutler E. & Kuhl W., Detection of the defect of Gaucher's disease and its carrier state in peripheral-blood leucocytes. *Lancet*, 1970, 1, 612-613.
- Beutler E., Gelbart T., Kuhl W., Sorge J. & West C., Identification of the second common Jewish Gaucher disease mutation makes possible population-based screening for the heterozygous state. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, 88, 10544-10547.
- Beutler E. & Grabowski G. A., Gaucher disease in *The metabolic and molecular bases of inherited disease*, Ed. C. R. Scriver, A. L. Beaudet, W. S. Sly, D. Valle, McGraw Hill, 1995, 2641-2670.
- Bishop D. F., Calhoun D. H., Bernstein H. S., Hantzopoulos P., Quinn M. & Desnick R. J., Human alpha-galactosidase A: nucleotide sequence of a cDNA clone encoding the mature enzyme. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986, 83, 4859-4863.
- Bishop D. F., Kornreich R. & Desnick R. J., Structural organization of the human alpha-galactosidase A gene: further evidence for the absence of a 3' untranslated region. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1988, 85, 3903-3907.
- Brady R. O., Barton N. W. & Grabowski G. A., The role of neurogenetics in Gaucher disease. *Arch. Neurol.*, 1993, 50, 1212-1224.
- Dahl N., Hillborg P. O. & Olofsson A., Gaucher disease (Norrbottnian type III): probable founders identified by genealogical and molecular studies. *Hum. Genet.*, 1993, 92, 513-515.
- Desnick R. J., Ioannou Y. A. & Eng C. M., α galactosidase A deficiency : Fabry disease. in *The Metabolic and molecular bases of inherited disease*, Ed C.R. Scriver, A. L. Beaudet, W. S. Sly, D. Valle, McGraw Hill, 2001, 3733-3774.
- Germain D., Biasotto M., Tosi M., Meo T., Kahn A. & Poenaru L., Fluorescence-assisted mismatch analysis (FAMA) for

- exhaustive screening of the alpha-galactosidase A gene and detection of carriers in Fabry disease. *Hum. Genet.*, 1996, 98, 719-726.
- Germain D. P., Puech J. P., Caillaud C., Kahn A. & Poenaru L., Exhaustive screening of the acid beta-glucosidase gene, by fluorescence-assisted mismatch analysis using universal primers: mutation profile and genotype/phenotype correlations in Gaucher disease. *Am. J. Hum. Genet.*, 1998, 63, 415-427.
- Germain D. P. & Poenaru L., Fabry disease: identification of novel alpha-galactosidase A mutations and molecular carrier detection by use of fluorescent chemical cleavage of mismatches. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1999, 257, 708-713.
- Gieselmann V., Lysosomal storage diseases. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1995, 1270, 103-136.
- GINNS E. I., Choudary P. V., Tsuji S., Martin B., Stubblefield B., Sawyer J., Hozier J. & Barranger J. A., Gene mapping and leader polypeptide sequence of human glucocerebrosidase: implications for Gaucher disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1985, 82, 7101-7105.
- Grabowski G. A., Saal H. M., Wenstrup R. J. & Barton N. W., Gaucher disease: a prototype for molecular medicine. *Crit. Rev. Oncol. Hemat.*, 1996, 23, 25-55.
- Guo Y., He W., Boer A. M., Wevers R. A., de Bruijn A. M., Groener J. E., Hollak C. E., Aerts J. M., Galjaard H. & van Diggelen O. P. Elevated plasma chitotriosidase activity in various lysosomal storage disorders. *J. Inher. Metab. Dis.*, 1995, 18, 717-722.
- Hollak C. E. M., van Weely S., van Oers M. H. J. & Aerts J. M. F. G., Marker elevation of plasma chitotriosidase activity. A novel hallmark of Gaucher disease. *J. Clin. Invest.*, 1994, 93, 1288-1292.
- Hong C. M., Ohashi T., Yu X. J., Weiler S. & Barranger J. A., Sequence of two alleles responsible for Gaucher disease. *DNA Cell Biol.*, 1990, 9, 233-241.
- Horowitz M., Wilder S. Reiner O., Gelbart T. & Beutler E., The human glucocerebrosidase gene and pseudogene : structure and evolution. *Genomics*, 1989, 4, 87-96.
- Kornreich R., Desnick R. J. & Bishop D. F., Nucleotide sequence of the human alpha-galactosidase A gene. *Nucleic Acids Res.*, 1989, 17, 3301-3302.
- Lieberman J. & Beutler E., Elevation of serum angiotensin-converting enzyme in Gaucher's disease. *N. Engl. J. Med.*, 1976, 294, 1442-1444.
- Lyon M., Gene action in the X-chromosome of the mouse (*Mus musculus* L). *Nature*, 1961, 190, 372.
- Masuno M., Tomatsu S., Sukegawa K. & Orii T., Non-existence of a tight association between a 444leucine to proline mutation and phenotypes of Gaucher disease : high frequency of a Ncil polymorphism in the non-neuronopathic form. *Hum. Genet.*, 1990, 84, 203-206.
- Mayes J. S., Scheerer J. B., Sifers R. N., Donaldson M. L., Differential assay for lysosomal alpha-galactosidases in human tissues and its application to Fabry's disease. *Clin. Chim. Acta.*, 1981, 112, 247-251.
- Meikle P. J., Hopwood J. J., Clague A. E. & Carey W. F., Prevalence of lysosomal storage disorders. *JAMA*, 1999, 281, 249-254.
- Nagao Y., Nakashima H., Fukuhara Y., Shimmoto M., Oshima A., Ikari Y., Mori Y., Sakuraba H. & Suzuki Y., Hypertrophic cardiomyopathy in late-onset variant of Fabry disease with high residual activity of alpha galactosidase A. *Clin. Genet.*, 1991, 39, 233-237.
- Poenaru L., Les maladies lysosomales. *Rev. Prat.*, 1994, 44, 645-653.
- Schnabel D., Schroder M. & Sandhoff K., Mutation in the sphingolipid activator protein 2 in a patient with a variant of Gaucher disease. *FEBS Lett.*, 1991, 284, 57-59.
- Tsuji S., Choudary P. V., Martin B. M., Winfield S. Barranger J. A. & Ginns E. I., Nucleotide sequence of cDNA containing the complete coding sequence for human lysosomal glucocerebrosidase. *J. Biol. Chem.*, 1986, 261, 50-53.
- Tsuji S., Martin B. M., Barranger J. A., Stubblefield B. K., LaMarca M. E. & Ginns E. I., Genetic heterogeneity in type I Gaucher disease: multiple genotypes in Ashkenazic and non-Ashkenazic individuals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1988, 85, 2349-2352.
- Vetrie D., Bentley D., Bobrow M. & Harris A., Physical mapping shows close linkage between the alpha-galactosidase A gene (GLA) and the DXS178 locus. *Hum. Genet.*, 1993, 92, 95-99.
- Wang A. M. & Desnick R. J., Structural organization and complete sequence of the human alpha-N-acetylgalactosaminidase gene: homology with the alpha-galactosidase A gene provides evidence for evolution from a common ancestral gene. *Genomics*, 1991, 10, 133-142.
- Zimran A., Sorge J., Gross E., Kubitz M., West C. & Beutler E., Prediction of severity of Gaucher's disease by identification of mutations at DNA level. *Lancet*, 1989, 2, 349-352.
- Zimran A., Gelbart T., Westwood B., Grabowski G. A. & Beutler E., High frequency of the Gaucher disease mutation at nucleotide 1226 among Ashkenazi Jews. *Am. J. Hum. Genet.*, 1991, 49, 855-859.
- Zimran A. & Horowitz M., RecTL: a complex allele of the glucocerebrosidase gene associated with a mild clinical course of Gaucher disease. *Am. J. Med. Genet.*, 1994, 50, 74-78.