

## ANÀLISI MOLECULAR DE LA MALALTIA DE GAUCHER

Bru Cormand<sup>§</sup>, Amparo Chabás<sup>†</sup>, Susana Balcells<sup>§</sup>, Roser González-Duarte<sup>§</sup>, Daniel Grinberg<sup>§</sup>, Lluïsa Vilageliu<sup>§</sup>

<sup>§</sup> Departament de Genètica, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona

<sup>†</sup> Institut de Bioquímica Clínica, Diputació de Barcelona

La malaltia de Gaucher (incidència 1:40.000) és el trastorn d'acumulació lisosomal més prevalent, s'hereda amb un patró autosòmic recessiu i presenta heterogeneïtat clínica. Es caracteritza per l'acumulació de l'esfingolípide glucocerebròsid als lisosomes com a resultat de la deficiència en glucocerebrosidasa, l'enzim hidrolític que degrada aquest substrat o, en casos rars, de la proteïna activadora de la glucocerebrosidasa (saposina C).

La malaltia presenta una simptomatologia de tipus sindròmic, i cursa amb degeneració de l'esquelet, hepatosplenomegàlia i, en els casos més greus, degeneració progressiva del sistema nerviós central que condueix a la mort del pacient. Hi ha dos subtipus clínics de la malaltia de Gaucher: no neuropàtic i neuropàtic. La forma no neuropàtica o adulta és la més benigna, i la forma neuropàtica, més greu, es caracteritza pel desenvolupament de patologia neurològica.

El gen que codifica la glucocerebrosidasa ha estat clonat i localitzat en el cromosoma 1q21, i cobreix una regió genòmica d'unes 7 Kb. S'ha identificat un pseudogen glucocerebrosidasa prop del gen funcional, amb una homologia del 96 % respecte al gen. S'han descrit diverses alteracions en el gen de la glucocerebrosidasa en individus afectats de Gaucher que inclouen mutacions puntuals, una inserció nucleotídica, entrecreuaments entre el gen i el pseudogen, i delecions.

L'objectiu d'aquest estudi és determinar el patró de mutacions responsables de Gaucher en la població espanyola, intentar correlacionar fenotip i genotip en els pacients, i dissenyar una estratègia de diagnòstic molecular que obviï les ambigüitats associades al diagnòstic bioquímic que es duu a terme actualment.

S'ha iniciat l'anàlisi mutacional a partir d'una mostra de 22 individus afectats. S'han identificat fins al moment dues mutacions puntuals majoritàries -N370S i L444P- que cobreixen més del 50 % dels al·lels analitzats (15 al·lels d'un total de 44 quan encara resten 17 pacients a analitzar per una de les dues mutacions). La primera és una transició A -> G a l'exó IX del gen que provoca una substitució aminoàcida asparragina -> serina en la posició 370 de la proteïna. Aquesta mutació afecta al mecanisme de reconeixement del substrat per l'enzim. La presència d'aquest al·lel en heterozigosi o en homozigosi va associada a la forma no neuropàtica de la malaltia. La segona mutació és una transició T -> C a l'exó X que provoca un canvi leucina -> prolina en la posició 444 de la proteïna, dins del centre actiu. Tots els casos descrits fins al moment, amb l'excepció d'alguns pacients japonesos, indiquen que aquesta mutació en homozigosi va invariablement associada a la forma neuropàtica de la malaltia, dada que es corrobora en aquest estudi. Donat que en ambdós casos la mutació afecta una diana de restricció (l'una ja present, l'altra creada artificialment), la tècnica utilitzada consistí en l'amplificació per PCR d'una regió genòmica al voltant de la mutació usant "primers" específics que discriminen entre gen i pseudogen, i digestió amb l'enzim de restricció corresponent.

Els resultats obtinguts en aquest estudi confirmen l'existència de dues mutacions majoritàries en població europea no jueva ja indicada en algun estudi previ (Walley et al, 1993, Gran Bretanya; Miranda et al, 1992, Portugal), suggerint potser orígens únics per a les dues mutacions o un "hot spot" mutacional. El treball continua actualment amb l'anàlisi de mutacions poc comunes o rares ja descrites i amb la possible identificació de noves mutacions, utilitzant tècniques com l'ASOH (Allele Specific Oligonucleotide Hybridization) i l'AMD (Amplification and Mismatch Analysis).