
ARTÍCULO DE REVISIÓN

Aspectos bioquímicos, genéticos y comorbilidades de la enfermedad de Gaucher, diagnóstico molecular en Cuba.

Co-morbidities, biochemical and genetic aspects in Gaucher's disease: molecular diagnosis in Cuba.

Arlet María Acanda de la Rocha.

Resumen

La enfermedad de Gaucher es la esfingolipidosis más común, causada por la deficiencia de la glucocerebrosidasa, una enzima lisosomal que cataliza la hidrólisis de la glucosilceramida en glucosa y ceramida. Se han descrito más de 250 mutaciones que se expanden a lo largo del gen que codifica esta enzima. Las manifestaciones clínicas son multisistémicas con un amplio espectro y en ocasiones no se correlacionan bien con el genotipo específico. Este trabajo presenta una actualización sobre distintos aspectos de la enfermedad de Gaucher y su diagnóstico molecular en Cuba.

Palabras clave: Enfermedad lisosomal, esfingolipidosis, enfermedad de Gaucher.

Abstract

Gaucher's disease is the most common sphingolipidoses, originated by a glucocerebrosidase deficiency, a lysosomal enzyme that catalyzes glucosylceramide hydrolysis into glucose and ceramide. More than 250 mutations have been described to date, expanding along the gene codifying this enzyme. Clinical manifestations are characterized by being wide-spectrum multisystemic ones, occasionally not correlating well with the specific genotype. This paper presents an update on Gaucher's disease and its molecular diagnosis in Cuba.

Keywords: Lysosomal disease, sphingolipidoses, Gaucher's disease.

Introducción

En 1882 un estudiante de medicina francés, Phillipe Charles E. Gaucher, presentó su tesis de grado describiendo lo que él pensaba se trataba de un "epitelioma" (ahora conocido como linfoma) en una mujer de 32 años de edad, quien presentaba esplenomegalia, cuya histología estaba caracterizada por la presencia de unas células grandes e inusuales, que eran macrófagos llenos de lípidos.¹ Muchas décadas pasaron hasta que se logró determinar que el producto lipídico almacenado en los macrófagos era glucocerebrósido y que su almacenamiento era el resultado de la deficiencia en la enzima glucocerebrosidasa (GBA). Subsecuentemente numerosos pacientes de diferentes grupos étnicos fueron identificados con esta afección alrededor del mundo.

La enfermedad de Gaucher (EG) es la más común de

las enfermedades por almacenamiento lisosomal.² La deficiencia de GBA se hereda en forma autosómica recesiva³ y los síntomas y signos de carácter general son multisistémicos, a menudo debilitantes y discapacitantes que hasta pueden llevar a la muerte.⁴

Epidemiología

La incidencia aproximada de la enfermedad de Gaucher (EG) en la población general es de 1/100.000 habitantes y entre los judíos de origen Ashkenazi, la población de mayor incidencia, es de 1/500-1/1000, siendo los portadores de 1 entre 10-12.⁵ La población de mayor riesgo de ser afectada son los judíos oriundos de Europa Central y Oriental. Aunque todos los enfermos presentan una deficiencia de la actividad de la glucocerebrosidasa, existe variación de persona a persona en cuanto a la edad de aparición y la severidad de los síntomas.³

Presentación Clínica

En dependencia de la presencia, o ausencia de afectación neurológica y su gravedad, la EG se ha clasificado tradicionalmente en tres tipos:⁶

- Tipo 1 (MIM 230800): Forma no neuropática (forma crónica o del adulto)
- Tipo 2 (MIM 230900): Forma neuropática (forma aguda o infantil)
- Tipo 3 (MIM 231000): Forma neuropática (forma subaguda o juvenil)

La principal diferencia entre las tres formas clínicas es la presencia y progresión de complicaciones neurológicas. Sin embargo, evidencias recientes sugieren la idea de una continuidad en las manifestaciones de la enfermedad, con un amplio espectro, por lo que actualmente esta clasificación resulta poco útil.

El tipo 1 es el más frecuente, representa cerca del 95% de los casos de Gaucher y es compatible con una supervivencia prolongada. El inicio de los síntomas puede comenzar a cualquier edad y usualmente no afecta el sistema nervioso central, aunque pueden presentarse neuropatías periféricas y signos parkinsonianos atípicos. Las células de Gaucher se infiltran en la médula ósea, hígado, bazo, algunas veces en los nódulos linfáticos y los pulmones, provocando los signos y síntomas típicos como la hepatoesplenomegalia y las manifestaciones esqueléticas y hematológicas. En ocasiones los pacientes que presentan este tipo de la enfermedad pueden tener un curso asintomático. Las dolencias óseas, fracturas, deformidades en forma de matraz de Erhlenmeyer, osteopenia, osteoesclerosis y osteonecrosis⁷ son características. También presentan citopenias de elementos sanguíneos como la anemia, trombocitopenia y leucopenia y compromiso metabólico y del desarrollo dado por retardo pondo-estatural y retardo puberal. En raras ocasiones presentan complicaciones debido al compromiso de los riñones, pulmones, corazón y piel.⁸

El tipo 2 de la enfermedad de Gaucher, forma neuropática o infantil aguda, es la más rara, fatal y progresiva, presenta síntomas y signos neurológicos desencadenando la muerte antes de los dos años de vida y no parece concentrarse en un grupo étnico particular.⁹

El tipo 3 de la enfermedad de Gaucher o forma neuropática subaguda o juvenil se caracteriza por ser una enfermedad neurológica lentamente progresiva, y como en el tipo 2 no parece concentrarse en algún grupo étnico particular, aunque se ha reportado un

gran número de casos en la región Norrbotten, en el norte de Suecia.¹⁰ Entre los signos neurológicos se encuentran: convulsiones, demencia y apraxia motora ocular, este último signo, a menudo, es el primero que aparece en el tipo 3 de la enfermedad.¹¹ Además puede causar problemas en el hígado y el bazo pero los pacientes pueden vivir hasta la edad adulta.

Esta heterogeneidad clínica dificulta enormemente el estudio comparativo y sistemático de los casos que se presentan. Es este un aspecto de importancia capital si se tiene en cuenta la dispersión de los pacientes.

Aspectos Bioquímicos

Esta enfermedad se caracteriza por tratarse de un trastorno genético en el cual existe una deficiencia parcial o total de la enzima β -glucocerebrosidasa (GBA). Esta enzima tiene tres dominios estructurales; el sitio activo se localiza en el dominio III, el cual está conectado por una bisagra flexible con el dominio II, y por una interacción fuerte con el dominio I. El residuo E235 ha sido identificado como el catalizador ácido/base y el residuo E340 actúa como el nucleófilo. Ambos residuos se encuentran localizados cerca de la región carboxilo terminal en el dominio III.¹²

La glucosilceramida es sintetizada a partir de la UDP-glucosa por la glucosilceramida sintetasa. Este proceso ocurre en el cerebro y en una gran variedad de tejidos y células. Con respecto a su catabolismo, la glucosilceramida es el penúltimo producto en la cadena de la degradación de los glucoesfingolípidos complejos. En general, la fuente fundamental productora de glucosilceramida son las membranas de los hematíes viejos (vida media de 100 a 120 días) y los leucocitos senescentes (vida media alrededor de 30 días) que deben ser degradados por la β -glucosidasa ácida presente en los lisosomas de los macrófagos existentes en los tejidos del sistema retículo endotelial.

La función de la β -glucocerebrosidasa es la hidrólisis del enlace β -glucosil de la glucosilceramida en los lisosomas, y requiere de la acción coordinada de la saposina C y de lípidos cargados negativamente para lograr su máxima actividad.⁶

En los enfermos de Gaucher esta descomposición catalítica es insuficiente y ocasiona el almacenamiento de grandes cantidades de sustrato dentro de los lisosomas de los macrófagos. Estas células cargadas de lípidos se conocen con el nombre de “células de Gaucher” y tienen una apariencia característica. Las células de Gaucher aumentan mucho de tamaño, son longevas y posiblemente inmortales. Estos macrófagos tisulares aberrantes se acumulan

progresivamente y en enormes cantidades en el hígado, el bazo, la médula ósea y otros órganos como el sistema nervioso central (SNC). Esta acumulación altera e inhibe el funcionamiento normal de estos órganos lo cual puede llevar a un daño irreparable. Estudios recientes sugieren que las células de Gaucher almacenadas pueden estimular una liberación elevada de citoquinas, tales como la interleuquina 6, 10 y el factor α de necrosis tumoral, los cuales a su vez pueden contribuir a la patogénesis de la enfermedad.¹³

El principal activador de la enzima, la saposina C, es codificada por el gen prosaposina (PSAP) que se localiza en el locus 10q21-22, afectaciones en este gen provocan alteraciones en la actividad de la GBA dando lugar a formas graves de la enfermedad.^{14,15} Se han descrito muy pocos casos de EG tipo 3 debido a un déficit de la saposina C.¹⁶

Aspectos genéticos

La enzima β -glucocerebrosidasa es codificada por un gen localizado en el cromosoma 1, región q21-31 (17, 18), que fue clonado entre 1984 y 1985. La secuencia completa del cDNA del gen fue descrita por el grupo de Sorge^{19,20} y subsecuentemente por Tsuji.² La proteína madura contiene 497 aminoácidos con un peso molecular calculado de 55,5 KDa. Alrededor del 13% de los residuos de la enzima son básicos (lisina, arginina o histidina) y además contiene alrededor de un 11% de residuos leucina y un 45% de aminoácidos no polares.

El gen tiene una longitud de 7,5 kilobases (Kb) distribuido en 11 exones y 10 intrones. A 16 Kb de su extremo 3' se localiza un pseudogen, con una longitud de 5,8 Kb y con el mismo número de exones e intrones, y presenta una homología del 96% con el gen estructural. La presencia del pseudogen favorece el intercambio de fragmentos de DNA entre ambos genes durante el proceso de recombinación, originando alelos no funcionales denominados alelos de recombinación (Rec).²² El pseudogen es más pequeño que el gen funcional debido a la pérdida de secuencias en los intrones 2 (313pb), 4 (626pb), 6 (320pb) y 7 (277pb) además de una delección en el exón 9 (55pb) y en el exón 4 (5pb). Se presume que estas secuencias intrónicas perdidas parecen ser las secuencias Alu que se insertaron en el gen funcional después del evento de duplicación.²³

Se ha descrito que la región en el cromosoma 1 (1q) donde se encuentra el gen de la glucocerebrosidasa humana es particularmente rica en genes, tanto así que en una distancia de 85kb se incluyen 7 genes y 2 pseudogenes.²⁴ El gen más cercano es la metaxina (MTX1), el cual es transcrito convergentemente con el

gen GBA. Este gen parece tener un papel importante en el complejo importador de la preproteína hacia el exterior de la membrana mitocondrial²⁵ y comparten un promotor bidireccional con el gen trombospondina 3.²⁶ El gen metaxina también presenta un pseudogen localizado a 16 kb entre el gen GBA y su pseudogen. Ambos pseudogenes parece ser el resultado de una duplicación de esta región, y están presentes en primates, pero no en otras especies.²⁷

El promotor del gen GBA es inusual con respecto a la mayoría de los genes que codifican enzimas lisosomales, ya que contiene la caja TATA y la caja CAAT pero no tiene el sitio de unión a SpI.²³ El gen GBA presenta 2 sitios de comienzo de la traducción ATG en el exón 1 y el exón 2,²⁸ lo cual produce una proteína con un péptido líder de 39 residuos si se comienza la transcripción en el primer ATG, o un péptido líder de 19 residuos si se comienza por el segundo ATG; aunque ambos son procesados a una enzima madura de 497 residuos. El polipéptido contiene 5 sitios potenciales de glicosilación, 4 de los cuales parecen estar glicosilados.²³

En la actualidad se conocen más de 300 mutaciones en el gen de la GBA en sujetos con la enfermedad de Gaucher. Estas mutaciones pueden ser clasificadas en 3 tipos, de acuerdo con Beutler, 1998:²⁹ mutación nula (la enzima no se produce), mutación severa (la enzima tiene una actividad catalítica muy baja y es inestable) y mutación leve (la enzima presenta actividad catalítica baja y es más estable).

Las mutaciones descritas en las diversas poblaciones parecen indicar una región en el gen GBA que es donde se concentra la mayor cantidad de mutaciones. Esa región se localiza entre los exones 8 y 10 del gen, donde también se encuentran las mutaciones principales N370S y L444P.³⁰

En Cuba la enfermedad de Gaucher tradicionalmente se ha diagnosticado mediante el examen clínico acompañado del estudio bioquímico midiendo los niveles de actividad de la enzima en los leucocitos o del examen histológico de médula ósea. Sin embargo, los estudios enzimáticos no permiten la distinción entre los individuos sanos y los portadores. A partir del año 2009 el laboratorio de Biología Molecular del Centro Nacional de Genética Médica implementó el estudio directo de las mutaciones N370S, L444P, IVS2+1, 55del y G377S debido a la alta frecuencia que estas mutaciones poseen en poblaciones genéticamente similares a la nuestra. También se estudia la presencia de los alelos de recombinación, originados por el entrecruzamiento del gen GBA con el pseudogen, y se realiza el estudio molecular de cada uno de los exones

del gen GBA utilizando técnicas como el análisis del polimorfismo conformacional de simple cadena (SSCP) y la secuenciación. Este estudio molecular se encuentra a disposición de todos los pacientes enfermos de Gaucher en el país. A continuación presentamos un resumen de las mutaciones estudiadas en nuestro laboratorio.

Mutación N370S

La mutación N370S es una transición de G por A en el nucleótido 5841 del gen activo de la glucocerebrosidasa, que provoca una sustitución de serina por asparagina. Fue descrita por primera vez en 1988³¹ y es la mutación más prevalente entre los enfermos de Gaucher. Tiene una frecuencia particularmente alta, 70-75%, entre los pacientes judíos Ashkenazi^{32,33} alrededor del 23% en los pacientes no judíos³⁴ y en España tiene una prevalencia del 50,2%.³⁵ El grupo de Grinberg demostró que los pacientes judíos Ashkenazi y los pacientes españoles comparten el mismo origen ancestral de esta mutación que se remonta a miles de años atrás.³⁶ Cuando se encuentra en alguno de los dos alelos mutados indica la presencia del tipo I de la enfermedad.

La mutación N370S se localiza en la región del gen que codifica una de las α -hélices de la proteína que conectan el dominio II con el III, muy lejos del sitio activo como para participar directamente en la catálisis, por lo que produce una enzima estable, que tiene la misma afinidad al sustrato artificial que la que tiene la enzima normal, pero que presenta una reducida actividad.¹²

Mutación L444P

La mutación L444P es el resultado de una transición de T por C en el nucleótido 6433 del gen activo de la glucocerebrosidasa que crea de un nuevo sitio para la enzima de restricción Nci I y provoca una sustitución de prolina por leucina. Fue descrita por primera vez en un paciente con Gaucher tipo 2³⁷ y luego se encontró en todos los tipos clínicos de esta enfermedad. Esta es la mutación más frecuente identificada en pacientes con síntomas neurológicos de la enfermedad de Gaucher, donde está presente en alrededor del 50% de los alelos mutados. En la enfermedad de Gaucher tipo 1 es especialmente frecuente en la población no judía, se observa en un 31% de los alelos mutados; comparado con solo 4% de los alelos de pacientes judíos afectados con Gaucher. En España se reporta en el 18,4% de los alelos mutados.³⁵ La mutación L444P repercute en la región hidrofóbica del dominio II de la proteína, provoca un cambio conformacional local que determina un plegamiento incorrecto en este dominio que afecta la función de la enzima. Este

descubrimiento concuerda con la suposición de que esta mutación produce una enzima catalíticamente activa pero inestable, por lo que le confiere al dominio II un papel regulador o funcional importante, quizás en la interacción con la Saposina C y/o con los fosfolípidos ácidos.¹²

Mutación IVS2+1

La mutación IVS2+1, transición de G por A en el primer nucleótido del segundo intrón del gen GBA, provoca que el sitio 5' donador del empalme sea destruido³⁸ y se sintetizan bajos niveles de dos mRNAs aberrantes. Uno de estos mRNAs no recibe la información contenida en el exón 2 del gen, mientras que el otro pierde la información del exón 2 y 115 bases del tercer exón.

Esta mutación está descrita entre el 1 y el 3% de los alelos, en pacientes judíos y no judíos con la enfermedad de Gaucher³³ y generalmente se encuentra asociada a la mutación N370S en los enfermos con el tipo 1 de la enfermedad, los cuales presentan una expresión de moderada a severa de la enfermedad.

Mutación 55del

La mutación 55del es el resultado de una delección de 55 pb en el exón 9 del gen de la glucocerebrosidasa ácida (g.6767_6822del55). Esta delección es la causa de la asignación errónea en el diagnóstico de los pacientes homocigotos N370S/N370S, cuando se utiliza el método del PCR para amplificar solo un segmento del exón 9. Es considerada una mutación severa pues produce un alelo nulo. Fue descubierta por primera vez en 1993 por el grupo liderado por Beutler,³⁹ debido a la discordancia entre el genotipo y el fenotipo en un paciente que supuestamente era homocigoto para la mutación N370S. Es de las mutaciones más frecuente en los pacientes españoles enfermos de Gaucher, con una frecuencia de 2,8%.³⁵ Si se considera la gran prevalencia del alelo N370S principalmente entre los judíos Ashkenazi con la enfermedad de Gaucher y el porcentaje de pacientes con un genotipo homocigótico para N370S con una forma moderada o severa del tipo 1 de la enfermedad de Gaucher, es posible que algunos pacientes puedan haber sido mal diagnosticados como homocigóticos. No obstante los reportes hasta la fecha demuestran que esta delección es más frecuente en las poblaciones que no son provenientes de los judíos Ashkenazi. Esta delección es particularmente interesante porque también está presente en el pseudogen de la glucocerebrosidasa ácida y puede ser el resultado de recombinaciones o eventos de fusión entre el gen GBA y el pseudogen.⁴⁰ De hecho, está demostrado que la región comprendida entre el intrón 8 y el

exón 10 del gen GBA es un sitio caliente para estas recombinaciones.⁴¹

Mutación G377S

La mutación G377S detremina una sustitución de glicina por serina en la superficie de la proteína. El origen de esta mutación se sugiere que proviene de una región central de Portugal. Esta mutación es común en pacientes ibéricos, representando el 7% de los alelos en pacientes portugueses⁴² y el 2,3% en los pacientes españoles enfermos de Gaucher.³⁵ En Brasil la frecuencia de esta mutación es también alta (2,2%).⁴³ Solo pocos casos con otros orígenes han sido reportados.⁴⁴ Se considera como una mutación con severidad media basada en que la actividad residual de la enzima es de 17,6%.⁴⁵ Se solía creer que esta mutación era neuroprotectora, hasta hace pocos años que se comenzaron a reportar casos portadores de esta mutación con manifestaciones neurológicas. Cuando está en simple dosis y se combina con otra mutación considerada como severa los pacientes manifiestan el tipo 3 de la enfermedad.

Alelos Recombinantes

La secuenciación de los clones de cDNA de varios pacientes con la enfermedad de Gaucher reveló la presencia de alelos complejos con muchas mutaciones. Uno de los alelos complejos presenta tres mutaciones puntuales dentro de la región codificadora: [1] una transición de T por C en el nucleótido 6433 (Leu⁴⁴⁴ por Pro), [2] una transversión de G por C en el nucleótido 6468 (Ala⁴⁵⁶ por Pro), [3] una transversión de G por C en el aminoácido 460, el cual no está asociado a ningún cambio aminoacídico.⁴⁶ Este alelo ha sido designado como RecNciI. Otro de los alelos complejos contiene las tres mutaciones anteriores y una transversión adicional de G por C (Asp⁴⁰⁹ por His) en el nucleótido 5957, designándose como RecTL. El análisis de la secuencia del gen con estas mutaciones indica que al menos parte del exón 9, intrón 9 y el exón 10 del alelo RecTL se deriva del pseudogen. De igual manera se demostró que el alelo RecNciI contiene el exón 10 del pseudogen. Se ha hipotetizado que la presencia del pseudogen cercano al gen activo en el mismo locus del cromosoma 1 (1q21) provoca transferencia de mutaciones al gen activo por la vía de recombinación homóloga desigual o por la conversión del gen.³⁴

La variante RecTL puede provocar una presentación clínica de moderada a asintomática, mientras que el alelo RecNciI puede estar asociado a una manifestación de moderada a severa de la enfermedad, aunque generalmente se ha asociado la presencia de los alelos recombinantes en homocigosis al tipo 2 de la enfermedad. Ambos alelos recombinantes producen

una proteína con actividad enzimática residual casi nula.⁴⁷

Correlación Genotipo-Fenotipo

Hasta hace algunos años era posible establecer relaciones entre el genotipo y el fenotipo observado en la enfermedad de Gaucher, basándose en el estudio molecular; especialmente para distinguir entre las formas neurológicas y no neurológicas de la enfermedad. Sin embargo, la realidad ha demostrado que no siempre es preciso en la predicción de la gravedad de la enfermedad.

El tipo 1 presenta una gran variabilidad fenotípica y engloba desde sujetos gravemente enfermos hasta pacientes que permanecen asintomáticos durante toda su vida.³⁵ La mayoría de los enfermos de Gaucher con el tipo 1 presenta al menos la mutación N370S en uno de sus alelos. Cerca del 90% de los pacientes con el genotipo N370S/N370S presentan un curso clínico leve de la enfermedad, muchos de ellos son asintomáticos,^{5,48} lo cual sugiere que esta mutación es capaz de producir actividad enzimática residual suficiente para frenar en parte el depósito de la glucosilceramida en los lisosomas. Cuando se presenta en heterocigosis, la severidad de la enfermedad está determinada por la otra mutación. Algunos pacientes (5%) homocigotos para N370S desarrollan el tipo 1 de moderado a severo; lo cual puede ser resultado de otros factores genéticos desconocidos o ambientales.

Numerosos artículos han descrito pacientes con el tipo 1 de la enfermedad que presentan alteraciones neurológicas diversas, lo cual nos sugiere un espectro muy amplio de las manifestaciones clínicas de la enfermedad. En el 2003 se reportó un grupo de pacientes que presentaban epilepsia mioclónica progresiva y portaban en uno de sus alelos la mutación G377S, la cual se solía considerar como protectora de las manifestaciones neurológicas.⁴⁹ Igualmente se consideraba que la mutación N370S tenía un efecto protector contra los síntomas neurológicos. Sin embargo, Sidransky reportó un caso de un enfermo de Gaucher con la mutación N370S con apraxia oculomotora, padeciendo de esta manera del tipo III de la enfermedad.⁵⁰ Este hallazgo modificó la hipótesis tradicional. En el 2008 se realizó un estudio en pacientes españoles con el tipo 1 de la enfermedad de Gaucher y el 30,7% de ellos presentaba alguna manifestación neurológica.⁵¹

De igual modo se consideraba que todos los pacientes homocigotos para la mutación L444P sufrían de la forma neurológica de la enfermedad de Gaucher⁵² hasta

que en un estudio en pacientes japoneses con el tipo 1 de la enfermedad, fue encontrado el homocigotismo para la mutación L444P.⁵³ Se han descrito pacientes homocigotos para L444P que han presentado un espectro autista severo y otros pacientes que han sido estudiantes exitosos con síntomas clínicos más leves.⁵⁴ Numerosos estudios durante años han evidenciado que diversos genes modificadores, genes contiguos, proteínas transportadoras y factores ambientales pueden influir en la presentación fenotípica de la enfermedad. Dentro de los factores genéticos se señala la expresión del gen PSAP, que codifica la saposina C. Mutaciones en este gen provocan síntomas típicos como hepatoesplenomegalia y compromiso neurológico, relacionándose con el tipo 2 de la enfermedad de Gaucher.⁵⁵ Los factores de transcripción responsables de la expresión diferencial del gen GBA en tejidos específicos incluyen proteínas como OCTA, AP-1, PEA3 y CAAT.⁵⁶ Deficiencias en los genes que codifican proteínas de membrana asociadas a los lisosomas (LAMP-1 y LAMP-2) y que participan en el transporte intracelular de la glucosilceramida del retículo endoplasmático a los lisosomas también pueden estar presentes en los enfermos de Gaucher.²³ Así mismo, mutaciones en el gen que codifica la IL-6 secretada por los macrófagos pudieran estar relacionadas con las manifestaciones óseas en estos pacientes, pues una de sus funciones es estimular la reabsorción ósea.⁵⁷ Toda la evidencia apunta a que no se puede establecer una clara relación genotipo-fenotipo en todos los casos y a que la clasificación en subtipos y gravedad de la enfermedad de Gaucher resulta poco útil en la actualidad, marcando la necesidad de un nuevo planteamiento.

Comorbilidades

Por la gran variedad de síntomas clínicos de la enfermedad de Gaucher, numerosos reportes apuntan a la idea de una continuidad en las manifestaciones de la enfermedad, que podría tener un amplio espectro, estas abarcan desde las complicaciones neurológicas muy graves y precoces hasta las formas asintomáticas que pueden pasar inadvertidas a lo largo de la vida.⁵⁸ El fenotipo de esta enfermedad incluye la relación con otras entidades clínicas, como ictiosis congénita,⁵⁹ calcificación de las válvulas cardíacas,⁶⁰ hidrocefalia y opacidad corneal,⁶¹ epilepsia mioclónica,⁴⁹ enfermedad renal y autoinmune⁶² y la enfermedad de Parkinson.⁶³ Numerosas publicaciones refieren un riesgo incrementado para aparición de cáncer en los pacientes con Gaucher, especialmente neoplasias hematológicas, mieloma múltiple y

adenocarcinoma hepático; en este aspecto nos referiremos solamente a la relación con el cáncer y con la enfermedad de Parkinson.

Relación con el cáncer

La asociación entre la enfermedad de Gaucher y el desarrollo de mieloma múltiple fue reportada por primera vez en 1968.⁶⁴ En el año 2005 se realizó un estudio utilizando 2 742 pacientes pertenecientes a la base de datos del Registro de enfermedad de Gaucher, que agrupa todos los enfermos de diferentes partes del mundo, y se demostró que la incidencia de tumores sólidos y neoplasias hematológicas no parece estar incrementada de manera significativa en los pacientes, con excepción del mieloma múltiple, cuya frecuencia en este estudio fue 6 veces superior a la esperada.⁶⁵ Sin embargo, en el año 2006 se estudió a 131 enfermos de Gaucher tipo 1 de Europa del Este, descendientes de judíos no-Ashkenazi, y se demostró que estos pacientes presentaban un riesgo incrementado, de 2,5 veces, de desarrollar cáncer. El riesgo de desarrollar un carcinoma hepatocelular o un tumor hematológico, específicamente mieloma múltiple, fue también muy alto (141,3; 12,7 y 5,1, respectivamente). Este estudio demostró que el riesgo de desarrollar cáncer en pacientes con Gaucher está presente no solo en pacientes con origen étnico Ashkenazi, sino también en poblaciones de una gran mezcla étnica, como la estudiada.⁶⁶

El Grupo Colaborativo Internacional de Gaucher participó en un estudio en el año 2008 en el que se demostró un alto riesgo de desarrollar mieloma en los enfermos de Gaucher, incluso el promedio de la edad al morir entre los pacientes de Gaucher que desarrollaron cáncer fue similar al promedio de la mortalidad por cáncer en la población general.⁶⁷

En el año 2009 el grupo de Taddei reportó un riesgo incrementado de padecer cáncer en los pacientes de Gaucher que portaban al menos un alelo con la mutación N370S; en el caso de mieloma múltiple el riesgo estuvo incrementado en 37,5 veces y en el caso de tumores hematológicos fue de 3,45 veces.⁶⁸

La patogénesis de este desorden en relación con la enfermedad de Gaucher permanece sin explicación. Las hipótesis se han concentrado principalmente en la estimulación antigénica crónica de las células B, provocando una hipergammaglobulinemia la cual puede eventualmente transformarse en una tumoración maligna. Se ha sugerido que esta estimulación sea provocada por la glucosilceramida acumulada en los macrófagos. Se han encontrado niveles elevados de IL-6 e IL-10, citoquinas que influyen en el crecimiento

y diferenciación de los linfocitos B, así como de IL-8 en el suero de pacientes enfermos de Gaucher.⁶⁹ Más aún, se ha señalado que la IL-6 es una citoquina significativa en la transducción de la señal en el mieloma múltiple,⁷⁰ involucrada en el crecimiento y sobrevivencia de las células del mieloma. Además han sido encontrados en algunos pacientes con Gaucher defectos en la función de los linfocitos T, demostrando que la ferritina liberada por las células de Gaucher está implicada en la reducción de la funcionalidad de los linfocitos T y en la reducción de la liberación de la inmunoglobulina M de las células B.⁷¹ Sin embargo, la respuesta inflamatoria en la enfermedad de Gaucher pudiera ser independiente de la deposición del glucocerebrosido, ya que se ha reportado inflamación sistémica en ratones deficientes de glucocerebrosidasa con un almacenamiento mínimo de la glucosilceramida.⁷²

Las dificultades en determinar las bases genéticas y fisiológicas en la asociación entre la enfermedad de Gaucher y el mieloma múltiple subrayan la complejidad de esta afección mendeliana “simple”.

Relación con la enfermedad de Parkinson

La asociación incidental de la enfermedad de Parkinson con la enfermedad de Gaucher en el mismo paciente fue reportada por primera vez en 1939.⁷³ En 1985 el grupo de McKernan describió un paciente de 55 años con el tipo 1 de la enfermedad de Gaucher, diagnosticado a la edad de 17 años, quien desarrolló un síndrome parkinsoniano, que solo respondía inicialmente al tratamiento con levodopa.⁷⁴ En 1996 Neudorfer reportó 6 pacientes con la enfermedad de Gaucher y Parkinson,⁷⁵ de los cuales 4 pacientes resultaron presentar una pobre respuesta a la levodopa. Tres años más tarde Machaczka reportó otro paciente con parkinsonismo que precedía las manifestaciones clínicas de la enfermedad de Gaucher por 12 años.⁷⁶ Más recientemente el grupo de Bembi describió 4 pacientes con la enfermedad de Gaucher y Parkinson cuya edad de comienzo fue menor que en la enfermedad clásica de Parkinson.⁵⁴ Todos estos reportes, y muchos otros, han enfatizado la asociación entre la enfermedad de Gaucher y el Parkinson. En el 2006 el grupo de Spitz reportó un paciente de Gaucher que desarrolló la enfermedad de Parkinson a la temprana edad de 45 años, mientras recibía la terapia de re-emplazo enzimático, lo cual confirma la ineffectividad de este tratamiento para corregir las manifestaciones neurológicas, hecho que se ha reportado también en numerosos artículos.⁷⁷

Un estudio en el 2004 realizado en varias familias

de pacientes enfermos de Gaucher, en los que se encontró una gran incidencia de manifestaciones parkinsonianas en los portadores de Gaucher, demostró que no existen mutaciones específicas en el gen GBA que predisponen al fenotipo parkinsoniano, debido a la diversidad de mutaciones identificadas en estos familiares. Existe una gran conciencia generalizada que la heterocigosidad en las enfermedades Mendelianas predispone al desarrollo de enfermedades complejas. Una hipótesis complementaria, pero no exclusiva, es que la heterocigosidad para las mutaciones de Gaucher puede causar una disfunción lisosomal subclínica, que contribuya a presentar fallas en la eliminación de los agregados insolubles que se forman en este tipo de enfermedades neurológicas. En este mismo estudio se postula que las mutaciones en el gen GBA pudieran ser un factor de riesgo en individuos con otros factores predisponentes para desarrollar la enfermedad de Parkinson, debido a que la mayoría de los enfermos y portadores de Gaucher no desarrollan esta enfermedad.⁷⁸

El tipo 1 de la enfermedad de Gaucher siempre ha sido asociado a la ausencia de manifestaciones neurológicas; sin embargo, en el 2008 se realizó un estudio a 72 familias españolas con miembros enfermos de Gaucher. Se estudiaron 99 pacientes y 266 familiares de los mismos, y la prevalencia global de manifestaciones neurológicas en pacientes con el tipo 1 de la enfermedad de Gaucher y en familiares portadores fue del 32,6 y el 13,5%, respectivamente; cifras que son superiores a las esperadas para la población general.⁷⁹ Considerando la enfermedad de Parkinson en particular, en este estudio su prevalencia en pacientes con el tipo 1 de la enfermedad fue 23 veces superior a la estimada en la población general; y entre los familiares portadores de alguna mutación del gen GBA la prevalencia fue de 17,3 veces superior también a la población general, lo cual se describe también en otros grupos étnicos.^{80,81} Estos resultados concuerdan con el de otros autores que han reportado que en pacientes con el tipo 1 de Gaucher la incidencia de manifestaciones neurológicas es superior a la que se observa en la población general. En este estudio también se describió que el 86,6% de los pacientes diagnosticados con el tipo 1 de la enfermedad de Gaucher, que presentaban manifestaciones neurológicas, portaban la mutación N370S. Otro estudio realizado en 2008 presentó el hecho de que un paciente de Gaucher, homocigoto para la mutación N370S, presentó un examen neurofisiológico alterado, descubrimiento relevante que reafirma el hecho de que dicha mutación no protege por completo la

aparición de síntomas neurológicos.⁵¹ En estudios realizados anteriormente también se ha demostrado que los portadores de mutaciones en el gen GBA pueden presentar algunas anomalías metabólicas, tales como descenso de la concentración del colesterol transportado por las lipoproteínas de alta densidad, por lo que una de las recomendaciones más ampliamente difundidas es la necesidad de realizar un examen neurológico sistemático a los pacientes con el tipo 1 de la enfermedad de Gaucher y a los portadores de mutaciones en el gen GBA, con el fin de detectar precozmente anomalías neurológicas.

Más aún, numerosas investigaciones se han concentrado en el estudio del gen GBA en los pacientes enfermos de Parkinson. En el 2004 el grupo de Lwin analizó 57 muestras de cerebro de pacientes con Parkinson y se encontró un alto índice de mutaciones en el gen GBA (14%).⁸² Después de esto, estudios similares se realizaron en Israel, USA, Canadá, Noruega y Venezuela para confirmar dicha asociación, los cuales arrojaron evidencias en pro y en contra del vínculo entre ambas enfermedades. La mayoría de estos estudios encontraron una frecuencia incrementada de mutaciones en el gen GBA que oscilan entre 5% y 30%, pero en la mayoría no se demostró un incremento estadísticamente significativo comparado con un apropiado grupo control. El grupo de Toft publicó un estudio en Noruega, en el cual demostró que en los pacientes de Parkinson estudiados no había ningún incremento significativo de la frecuencia de las mutaciones en el gen GBA⁸³ comparado con un grupo control adecuadamente escogido. Sin embargo, en el 2008 en un estudio realizado en Brasil, se estudiaron 65 pacientes con Parkinson y se encontraron mutaciones en el gen GBA en un 3% de estos pacientes, lo cual demostró un incremento estadísticamente significativo respecto a un grupo control de 267 individuos, apropiadamente seleccionado de acuerdo a la edad y el sexo. Este reporte muestra una alta frecuencia de mutaciones en el gen GBA entre los pacientes de Parkinson en una población con una baja prevalencia de la enfermedad de Gaucher (1 en 400 000), reforzando la hipótesis de la asociación entre ambas entidades.⁸⁴

Un grupo de 5 estudios de cohorte diferentes se siguieron desarrollando para estudiar esta asociación entre la enfermedad de Gaucher y el Parkinson. En el primer cohorte se estudiaron 57 muestras de cerebro de enfermos de Parkinson fallecidos, obtenidas de 5 bancos de cerebro diferentes de Norteamérica. Se encontraron alteraciones en el gen GBA en el 21% de las muestras que pertenecían a enfermos con inicio

temprano de Parkinson, frente a la ausencia de estas mutaciones en 44 sujetos del grupo control. Otro estudio con 26 muestras de cerebro provenientes de enfermos de Parkinson británicos reveló la presencia de mutaciones en el gen GBA en el 8% de las muestras. En una tercera serie, investigadores de Israel estudiaron 99 judíos Ashkenazi con la enfermedad de Parkinson, identificando 31 pacientes (31,3%) con mutaciones en el gen GBA. Científicos en Toronto estudiaron 88 canadienses con Parkinson, encontrando mutaciones en el gen GBA en el 5,6% de la muestra, comparado con el 0,8% en el grupo control. El quinto estudio se realizó en Venezuela, se analizaron 33 enfermos de Parkinson con inicio temprano de la enfermedad y sin antecedentes familiares de ancestros judíos Ashkenazi; en el 12% de ellos se detectaron mutaciones en el gen GBA, comparado con una frecuencia de 3,2% en el grupo control. Todos estos estudios ratifican que las mutaciones en el gen GBA están presentes con una frecuencia elevada, no solo entre los judíos Ashkenazi enfermos de Parkinson, sino también entre los enfermos de diversos grupos étnicos,⁸⁵ lo cual apunta a que este gen es un importante factor de riesgo que incide en la susceptibilidad a padecer la enfermedad de Parkinson.

Otros estudios incluso han demostrado el efecto diferencial que tienen los portadores de mutaciones leves con respecto a los portadores de mutaciones severas en el gen GBA en cuanto al riesgo y la edad de comienzo de desarrollar Parkinson. Según el grupo de investigación de Gan-Or, al estudiar 420 pacientes de Parkinson con ancestros de judíos Ashkenazi, los portadores de mutaciones leves en el gen GBA tienen un riesgo incrementado de 2,2 veces de desarrollar Parkinson y un promedio de comienzo de la enfermedad de 57,9 años; mientras que los portadores de mutaciones severas en el gen GBA poseen un riesgo incrementado de 13,6 veces de desarrollar el Parkinson y un promedio de inicio de la enfermedad de 55,7 años.⁸⁶

Toda esta evidencia ha demostrado la implicación reciente del gen GBA en la patología de la enfermedad de Parkinson, a la que hasta ahora se han asociado numerosos genes. Un estudio de Kalinderi en el año 2009 hace una re-consideración sobre el metabolismo lipídico, como una de las vías potenciales asociadas con la enfermedad de Parkinson. Según la evidencia publicada en un reporte del 2007 los ácidos grasos poli insaturados provocan cambios patogénicos en la α -sinucleína en las células neuronales, una observación que puede ser relevante teniendo en cuenta que la α -sinucleína parece tener un papel

importante en la enfermedad de Parkinson y es además es el componente mayoritario en la patología de cuerpos de Lewy. Interesantemente las mutaciones en el gen GBA pueden alterar la unión de la α -sinucleína a la membrana celular, provocando la agregación y formación de los cuerpos de Lewi.

Por otra parte, la kinasa tipo 2 rica en repeticiones de leucina (proteína LRRK2) que también está involucrada en la enfermedad de Parkinson, ha sido encontrada en asociación con los llamados “*lipids rafts*”. La fosfolipasa independiente de calcio A2, proteína crucial en el metabolismo neuronal de los fosfolípidos ha sido recientemente caracterizada como un locus para la distonía del Parkinson. Tomando en consideración estos datos, el metabolismo lipídico

emerge como un proceso que tiene un papel central en el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas.⁸⁷

Conclusiones

Mucho se ha avanzado en el conocimiento de la enfermedad de Gaucher, considerada una de las enfermedades de depósito lisosomal mejor estudiadas, sin embargo aún quedan muchas incógnitas que resolver para conseguir mejorar la calidad de vida de los pacientes, evitando las complicaciones. La evaluación fenotípica detallada y cuidadosa de la heterogeneidad de Gaucher es imprescindible para marcar los límites en la comprensión de la patogénesis de esta enfermedad.

Referencias bibliográficas

- 1-Gaucher PCE. On primary epithelioma of the spleen: idiopathic hypertrophy of the spleen without leukemia (Thesis, Doctor of Medicine). Paris: Octave Doin; 1882.
- 2- Zhao H, Grabowski GA. Gaucher disease: Perspectives on a prototype lysosomal disease. *Cell Mol Life Sci.* 2002;59(4):694-707.
- 3- Niederau C, Birkhan A, Ehlen C, Haussinger D. Facts and fiction of modern diagnosis of type 1 Gaucher disease: the German experience in 1996. *Gauch Clin Perspec.* 1998;4(2):1-15.
- 4- Tsuboi K. Improvement of splenomegaly and pancytopenia by enzyme replacement therapy against type 1 Gaucher disease: a report of sibling cases. *Int J Hematol.* 2001;73(3):356-62.
- 5- Zimran A, Gelbart T, Westwood B, Grabowski GA, Beutler E. High frequency of the Gaucher disease mutation at nucleotide 1226 among Ashkenazi Jews. *Am J Hum Genet.* 1991; 49(4):885-9.
- 6-Beutler E, Grabowski GA. Gaucher disease, in: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (Eds), *Met. Mol. Bases Inherit. Dis.*, Vol. 3. New York: McGraw-Hill; 2001. pp 3635-3668.
- 7-Pastores GM, Hermann G, Norton K, Desnick RJ. Resolution of a proximal humeral defect in type-1 Gaucher disease by enzyme replacement therapy. *Pediatr Radiol.* 1995;25(6):486-7.
- 8- Santoro D, Rosenbloom BE, Cohen AH. Gaucher disease with nephrotic syndrome response to enzyme replacement therapy. *Am J Kidney Dis.* 2002;40(1):E4.
- 9- Stone DL, Tayebi N, Orvisky E, Stubblefield B, Madike V, Sidransky E. Glucocerebrosidase gene mutations in patients with type 2 Gaucher disease. *Human Mutat.* 2000;15(2):181-8.
- 10- Dahl N, Lagerstrom M, Erikson A, Petterson U. Gaucher disease type III (Norrbottnian type) is caused by a single mutation in exon 10 of the Glucocerebrosidase gene. *Am J Hum Genet.* 1990;47(2):275-8.
- 11- Harris CM, Taylor DS, Vellodi A. Ocular motor abnormalities in Gaucher disease. *Neuropediatrics.* 1999;30(6):289-93.
- 12- Dvir H, Harel M, McCarthy AA, Toker L, Silman I, Futerman AH, et al. X-ray structure of human acid- β -glucosidase, the defective enzyme in Gaucher disease. *EMBO Rep.* 2003;4(7): 704-9
- 13- Pastores GM, Weinreb NJ, Aerts H, Andria G, Cox TM, Giralt M, et al. Therapeutic goals in the treatment of Gaucher disease. *Semin Hematol.* 2004;41(5): 4-14.
- 14- Harzer K, Paton BC, Poulos A, Kustermann-Kuhn B, Roggendorf W, Grisar T, et al. Sphingolipid activator protein deficiency in a 16-week-old atypical Gaucher disease patient and his fetal sibling: biochemical signs of combined sphingolipidoses. *Eur J Pediatr.* 1989;149(1):31-9.
- 15- 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 (1):57-9.
- 16- Christomanou H, Chabás A, Pámpols T, Guardiola A. Activator protein deficient Gaucher's disease. A second patient with the newly identified lipid storage disorder. *Klin Wochenschr.* 1989;67(19):999-1003.
- 17- Barneveld RA, Keijzer W, Tegelaers FP, Ginns EI, Geurts van Kessel A, Brady RO, et al. Assignment of the gene coding for human beta-glucocerebrosidase to the region q21-q31 of chromosome 1 using monoclonal antibodies. *Hum Genet.*

1983;64(3):227-31.

- 18- Ginns EI, Choudary PV, Tsuji S, Martin B, Stubblefield B, Sawyer J, et al. Gene mapping and leader polypeptide sequence of human glucocerebrosidase: Implications for Gaucher disease. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1985;82(20):7101-5.
- 19- Sorge J, Gelbart T, West C, Westwood B, Beutler E. Heterogeneity in type I Gaucher disease demonstrated by restriction mapping of the gene. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1985;82(16): 5442-5.
- 20- Sorge J, Kuhl W, West C, Beutler E. Gaucher Disease: Retrovirus-mediated correction of the enzymatic defect in cultured cells. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 1986;51(2):1041-6.
- 21- Tsuji S, Choudary PV, Martin BM, Winfield S, Barranger A, Ginns EI. Nucleotide sequence of cDNA containing the complete coding sequence for human lysosomal glucocerebrosidase. *J Biol Chem*. 1986;261(1):50-3.
- 22- Giraldo P, Giral M, Pérez-Calvo JI, Pocoví M. Enfermedad de Gaucher. Epidemiología, clínica, diagnóstico, tratamiento. España: Editorial RS Zaragoza; 1999.
- 23- Mistry PK, Cox TM. The glucocerebrosidase locus in Gaucher's disease: molecular analysis of a lysosomal enzyme. *J Med Genet*. 1993;30(8):889-94.
- 24- Winfield SL, Tayebi N, Martin BM, Ginns EI, Sidransky E. Identification of three additional genes contiguous to the glucocerebrosidase locus on chromosome 1q21: implications for Gaucher disease. *Genome Res*. 1997;7(10):1020-6.
- 25- Armstrong LC, Komiya T, Bergman BE, Mihara K, Bornstein P. Metaxin is a component of a preprotein import complex in the outer membrane of the mammalian mitochondrion. *J Biol Chem*. 1997;272(10):6510-8.
- 26- Adolph KW, Long GL, Winfield S, Ginns EI, Bornstein P. Structure and organization of the human thrombospondin 3 gene (THBS3). *Genomics*. 1995;27(2):329-36.
- 27- Martínez-Arias R, Comas D, Mateu E, Bertranpetit J. Glucocerebrosidase pseudogene variation and Gaucher disease: recognizing pseudogene tracts in GBA alleles. *Hum Mutat*. 2001; 17(3):191-8.
- 28- Sorge J, West C, Westwood B, Beutler E. Molecular cloning and nucleotide sequence of human glucocerebrosidase cDNA. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1985;82(21):7289-93.
- 29- Beutler E, Gelbart T. Hematologically important mutations: Gaucher disease. *Blood Cells Mol Dis*. 1998;24(1):2-8.
- 30- Beutler E, Gelbart T, Scott CR. Hematologically important mutations: Gaucher disease. *Blood Cells Mol Dis*. 2005;35(3):355-64.
- 31- Tsuji S, Martin BM, Barranger JA, Stubblefield BR, LaMarca ME, Ginns EI. Genetic heterogeneity in Type I Gaucher's disease: multiple genotypes in Ashkenazi and non-Ashkenazi individuals. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1988;85(7):2349-52.
- 32- Beutler E, Gelbart T, Kuhl W, Zimran A, West C. Mutations in Jewish patients with Gaucher disease. *Blood*. 1992;79(7):1662-6.
- 33- Horowitz M, Tzuri G, Eyal N, Berebi A, Kolodny EH, Brady RO, et al. Prevalence of nine mutations among Jewish and non-Jewish Gaucher patients. *Am J Hum Genet*. 1993;53(4):921-30.
- 34- Horowitz M, Zimran A. Mutations causing Gaucher Disease. *Hum Mutat*. 1994;3(1):1-11.
- 35- Giraldo P, Alfonso P, Aznarez S, Giral M, Pocoví M. Mutation analysis and genotype/phenotype relationships of Gaucher disease patients in Spain. *J Hum Genet*. 2007; 52(5):391-6.
- 36- Díaz A, Montfort M, Cormand B, Zeng B, Pastores GM, Chabás A, et al. Gaucher Disease: The N370S Mutation in Ashkenazi Jewish and Spanish Patients has a Common Origin and Arose Several Thousand Years Ago. *Am J Hum Genet*. 1999;64(4):1233-8.
- 37- Tsuji S, Choudary PV, Martin BM, Stubblefield BK, Mayor A, Barranger JA, et al. A mutation in the human glucocerebrosidase gene in neuronopathic Gaucher's disease. *N Engl J Med*. 1987;316(10):570-5.
- 38- He G-S, Grabowski GA. Gaucher disease: A G+1 → A+1 IVS2 splice donor mutation causing exon skipping in the acid B-glucosidase mRNA. *Am J Hum Genet*. 1992;51(4):810-20.
- 39- Beutler E, Gelbart T, West C. Identification of six new Gaucher disease mutations. *Genomics*. 1993;15(1):203-5.
- 40- Tayebi N, Stern H, Dymarskaia I, Herman J, and Sidransky E. 55-base pair deletion in certain patients with Gaucher disease complicates screening for common Gaucher alleles. *Am J Med Genet*. 1996;66(3):316-9.
- 41- Koprivica V, Stone DL, Park JK, Callahan M, Frish A, Cohen IJ, et al. Analysis and classification of 304 mutant alleles in patients with type 1 and type 3 Gaucher disease. *Am J Hum Genet*. 2000;66(6):1777-86.
- 42- Amaral O, Pinto E, Fortuna M, Lacerda L, Sa Miranda MC. Type 1 Gaucher disease: identification of N396T and prevalence of glucocerebrosidase mutations in the Portuguese. *Hum Mutat*. 1996;8(3):280-1.
- 43- Rozenberg R, Araújo FT, Fox DC, Aranda P, Nonino A, Micheletti C, et al. High frequency of mutation G377S in Brazilian type 3 Gaucher disease patients. *Braz J Med Biol Res*. 2006;39(9):1171-9.
- 44- Germain DP, Puech JP, Caillaud C, Kahn A, Poenaru L. Exhaustive screening of the acid b-glucosidase gene by fluorescence-assisted mismatch analysis using universal primers: mutation profile and genotype:phenotype correlation's in Gaucher disease. *Am J Hum Genet*. 1998;63(2):415-27.

- 45- Amaral A, Marcao A, Sa Miranda MC, Desnick RJ, Grace ME. Gaucher disease: expression and characterization of mild and severe acid α -glucosidase mutations in Portuguese type 1 patients. *Eur J Hum Genet.* 2000;8(2): 95-102.
- 46- Zimran A, Sorge J, Gross E, Kubitz M, West C, Beutler E. A glucocerebrosidase fusion gene in Gaucher's disease. Implications for the molecular anatomy, pathogenesis and diagnosis of this disorder. *J Clin Invest.* 1990;85(1):219-22.
- 47- Cormand B, Harboe TL, Gort L, Campoy C, Blanco M, Chamoles N, et al. Mutation analysis of Gaucher disease patients from Argentina: high prevalence of the RecNci I mutation. *Am J Med Genet.* 1998;80(4):343-51.
- 48- 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(8659):349-52.
- 49- Park JK, Orvisky E, Tayebi N, Kaneski C, LaMarca ME, Stubblefield BK, et al. Myoclonic epilepsy in Gaucher disease: genotype-phenotype insights from a rare patient subgroup. *Pediatr Res.* 2003;53(3):387-95.
- 50- Sidransky E, Tsuji S, Stubblefield BK, Currie J, Fitz-Gibbon E, Ginns EI. Gaucher patients with oculomotor abnormalities do not have a unique genotype. *Clin Genet.* 1992;41(1):1-5.
- 51- Capablo J L, Saenz de Cabezón A, Fraile J, Alfonso P, Pocovi M, Giraldo P. Neurological evaluation of patients with Gaucher disease diagnosed as type 1. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2008;79(2):219-22.
- 52- Dahl N, Lagerstrom M, Erikson A, Petersson U. Gaucher disease type III (Norrbotnian type) is caused by a single mutation in exon 10 of the glucocerebrosidase gene. *Am J Hum Genet.* 1990;47(2):275 -8.
- 53- Masuno M, Tomatsu S, Sukegawa K, Tadao O. Non-existence of a tight association between a 444Ileucine to proline mutation and phenotypes of Gaucher disease: high frequency of a NciI polymorphism in the non-neuronopathic form. *Hum Genet.* 1990;84(2):203-6.
- 54- Bembi B, Zambito S, Sidransky E, Ciana G, Carrozzi M, Zorzon M, et al. Gaucher's disease with Parkinson's disease: clinical and pathological aspects. *Neurology.* 2003;61(1):99-101.
- 55- Mignot C, Doummar D, Maire I, de Villemeur TB. Type 2 Gaucher disease: 15 new cases and review of the literature. *Brain Dev.* 2006;28(1):39-48.
- 56- Reinier O, Horowitz M. Differential expression of the human glucocerebrosidase-coding gene. *Gene.* 1988;73(2):469-78.
- 57- Alatrescu G, Phillips M, Foldes AJ, Elstein D, Zimran A, Mates M. The interleukin-6 promoter polymorphism in Gaucher disease: a new modifier gene? *QJM.* 2003;96(8):575-8.
- 58- Sidransky E. Gaucher disease: complexity in a "simple" disorder. *Mol Genet Metab.* 2004; 83(1-2):6-15.
- 59- Stone DL, Carey WF, Christodoulou J, Sillence D, Nelson P, Callahan M, et al. Type 2 Gaucher disease: the collodion baby phenotype revisited. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2000;82(2):F163-6.
- 60- Abrahamov A, Elstein D, Gross-Tsur V, Farber B, Glaser Y, Hadas-Halpern I, et al. Gaucher's disease variant characterised by progressive calcification of heart valves and unique genotype. *Lancet.* 1995;346(8981):1000-3.
- 61- Uyama E, Takahashi K, Owada M, Okamura R, Naito M, Tsuji S, et al. Hydrocephalus, corneal opacities, deafness, valvular heart disease, deformed toes and leptomeningeal fibrous thickening in adult siblings: a new syndrome associated with beta-glucocerebrosidase deficiency and a mosaic population of storage cells. *Acta Neurol Scand.* 1992;86(4):407-20.
- 62- Goker-Alpan O, Tayebi N, Kishani P, Rosenbaum H, Sidransky E. Renal involvement in Gaucher disease: different mechanisms with different outcomes. *Pediatr Res.* 2003;53:167S.
- 63- Tayebi N, Callahan M, Madike V, Stubblefield BK, Orvisky E, Krasnewich D, et al. Gaucher disease and parkinsonism: a phenotypic and genotypic characterization. *Mol Genet Metab.* 2001;73(4):313-21.
- 64- Pratt PW, Kochwa S, Estren S. Immunoglobulin abnormalities in Gaucher's disease. Report of 16 cases. *Blood.* 1968;31(5):633- 40.
- 65- Rosenbloom BE, Weinreb NJ, Zimran A, Kacena KA, Charrow J, Ward E. Gaucher disease and cancer incidence: a study from the Gaucher Registry. *Blood.* 2005;105(12):4569-72.
- 66- Fost M, Dahl SV, Weverling GJ, Brill N, Brett S, Haussinger D, et al. Increased incidence of cancer in adult Gaucher disease in Western Europe. *Blood Cells Mol Dis.* 2006;36(1):53-8.
- 67- Weinreb NJ, Deegan P, Kacena KA, Mistry P, Pastores GM, Velentgas P, et al. Life expectancy in Gaucher disease type 1. *Am J Hematol.* 2008;83(12):896-900.
- 68- Taddei TH, Kacena KA, Yang M, Yang R, Malhotra A, Boxer M, et al. The underrecognized progressive nature of N370S Gaucher disease and assessment of cancer risk. *Am J Hematol.* 2009; 84(4):208-14.
- 69- Barak V, Acker M, Nisman B, Kalickman I, Abrahamov A, Zimran A, et al. Cytokines in Gaucher's disease. *Eur Cytokine Netw.* 1999;10(2):205-10.
- 70- Cheung WC, Van Ness B. Distinct interleukin-6 signal transduction leads to growth arrest and death in B-cells or growth promotion and cell survival in myeloma cells. *Leukemia.* 2002; 16(6):1182-8.
- 71- Pollack S, Kedem E, Brenner B. Serum ferritin interferes with in vitro immune functions of patients with Gaucher disease. *Isr J Med Sci.* 1987;23:1273-6.

- 72- Mizukami H, Mi Y, Wada R, Kono M, Yamashita T, Liu Y. Systemic inflammation in glucocerebrosidase-deficient mice with minimal glucosylceramide storage. *J. Clin Invest.* 2002;109(9):1215-21.
- 73- Van Bogaert LF. Un cas de maladie de Gaucher de la' dulte avec syndrome de Raynaud, pigmentation, et rigidite du type extrapyramidal aux membres inferieurs. *Ann Med.* 1939; 45:57-70.
- 74- McKeran RO, Bradbury P, Taylor D, Stern G. Neurological involvement in type 1 (adult) Gaucher's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1985;48(2):172-5.
- 75- Neudorfer O, Giladi N, Elstein D, Abrahamov A, Turezkite T, Aghai E, et al. Occurrence of Parkinson's syndrome in type I Gaucher disease. *QJM.* 1996;89(9):691-4.
- 76- Machaczka M, Rucinska M, Skotnicki AB, Jurczak W. Parkinson's syndrome preceding clinical manifestation of Gaucher's disease. *Am J Hematol.* 1999;61(3):216-7.
- 77- Spitz M, Rozenberg R, Silveira PA, Barbosa ER. Parkinsonism in type 1 Gaucher's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2006;77(5):709-10.
- 78- Goker-Alpan O, Schiffmann R, LaMarca ME, Nussbaum RL, McInerney-Leo A, Sidranski E. Parkinsonism among Gaucher disease carriers. *J Med Genet.* 2004;41(12):937-40.
- 79- Giraldo P, Capablo JL, Alfonso P, Latre P, Garcia B, Pocovi M. Manifestaciones neurológicas en pacientes con enfermedad de Gaucher y sus familiares. *Med Clin (Barc).* 2008;131(5):175-9.
- 80- Halperin A, Elstein D, Zimran A. Increased incidence of Parkinson disease among relatives of patients with gaucher disease. *Blood Cells Mol Dis.* 2006;36(3):426-8.
- 81- Kono S, Shirakawa K, Ouchi Y, Sakamoto M, Ida H, Sugiyara T, et al. Dopaminergic neuronal dysfunction associated with parkinsonism in both a Gaucher disease patient and a carrier. *J Neurol Sci.* 2007; 252(2):181-4.
- 82- Lwin A, Orvisky E, Goker-Alpan O, LaMarca ME, Sidransky E. Glucocerebrosidase mutations in subjects with parkinsonism. *Mol Genet Metab.* 2004;81(1):70-3.
- 83- Toft M, Pielsticker L, Ross OA, Aasly JO, Farrer MJ. Glucocerebrosidase gene mutations and Parkinson disease in the Norwegian population. *Neurology.* 2006;66(3):415-7.
- 84- Spitz M, Rozenberg R, Pereira LV, Barbosa ER. Association between Parkinson's disease and glucocerebrosidase mutations in Brazil. *Parkinsonism Relat Disord.* 2008;14(1):58-62.
- 85- Eblan MJ, Nguyen J, Ziegler SG, Lwin A, Hanson M, Gallardo M, Weiser R, De Lucca M, Singleton A. Glucocerebrosidase mutations are also found in subjects with early-onset Parkinsonism from Venezuela. *Mov Disord.* 2006;21(2):282-8.
- 86- Gan-Or Z, Giladi N, Rozovski U, Shifrin C, Rosner S, Gurevich T, et al. Genotype-phenotype correlations between GBA mutations and Parkinson disease risk and onset. *Neurology.* 2008;70(24):2277-83.
- 87- Kalinderi K, Bostantjopoulou S, Paisan-Ruiz C, Katsarou Z, Hardy J, Fidani L. Complete screening for glucocerebrosidase mutations in Parkinson disease patients from Greece. *Neurosci Lett.* 2009;452(2):87-9.