

Н.Г. ГОРОВЕНКО<sup>1</sup>, Н.В. ОЛЬХОВИЧ<sup>2</sup>,  
А.М. НЕДОБОЙ<sup>2</sup>, Н.О. ПІЧКУР<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Національна медична академія  
післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика, Київ

<sup>2</sup> Медико-генетичний центр УДСЛ «ОХМАТДИТ»  
МОЗ України, Київ

## ВИЗНАЧЕННЯ ЧАСТОТИ МАЖОРНИХ МУТАЦІЙ В ГЕНІ *GBA* У ПАЦІЄНТІВ З ХВОРОБОЮ ГОШЕ В УКРАЇНІ



*Проведено молекулярно-генетичне обстеження у 27 пацієнтів з хворобою Гоше із 26 родин. Досліджено мажорні мутації в гені *GBA* – N370S, L444P та 84GG. Сумарна частка мажорних мутацій склала майже 58 %, частка алелів, що несуть мутацію N370S – 42,3 %, мутацію L444P – 15,4 %. Не було виявлено жодного алеля, який би містив мутацію 84GG. Серед інших мутацій в гені *GBA* було знайдено рідкісні мутації P178S, W184R та Rec Nci I (усі в компаунді з N370S) у пацієнтів з нейронопатичною формою захворювання, а також генотипи G377S/c 999GA та D409H/R120W/G202R у пацієнтів з хронічною нейронопатичною формою. Аналіз співвідношення генотипу та перебігу захворювання у пацієнтів показав, що генотип-фенотипові кореляції близькі до описаних для європейських популяцій.*

© Н.Г. ГОРОВЕНКО, Н.В. ОЛЬХОВИЧ, А.М. НЕДОБОЙ,  
Н.О. ПІЧКУР, 2007

ISSN 0564–3783. Цитология и генетика. 2007. № 4

**Вступ.** Хвороба Гоше (ХГ) належить до лізосомних хвороб накопичення з аутосомно-рецесивним типом успадкування і обумовлена мутаціями в гені глюкоцереброзидази. Дефіцит глюкоцереброзидазної активності, який виникає внаслідок цих мутацій, призводить до накопичення нерозщепленого глюкозил-цераміду в лізосомах клітин, що спричиняє порушення функції макрофагів. В результаті виникає полісистемне захворювання, основними клінічними ознаками якого є гепатоспленомегалія, панцитопенія та ураження кісткової тканини. Частота ХГ в різних популяціях становить від 1 : 40 000 до 1 : 60 000 [1], а в популяції євреїв ашкеназі – 1 : 850 [2, 3].

Ген глюкоцереброзидази (*GBA*) локалізований на довгому плечі хромосоми 1 в положенні q21 і має довжину 7 тис. п.н. Він налічує 11 екзонів та 10 інтронів, довжина кДНК – 2,5 тис. п.н. [4]. На відстані 16 тис. п.н. від функціонального гена *GBA* розташований псевдоген (*psGBA*), який має довжину 5 тис. п.н. Структурно псевдоген має як екзони, так і інтрони та виник, вірогідно, еволюційно шляхом тандемної дуплікації *GBA*. Деякі мутації функціонального гена *GBA*, які є причиною виникнення ХГ, присутні також і в псевдогені, що сприяє генній конверсії та рекомбінації між функціональним геном та псевдогеном. Це вказує на фундаментальну роль псевдогена в утворенні мутацій у гені *GBA*.

На сьогодні вже описано близько 200 мутацій в гені *GBA* [5]. Серед них присутні всі типи мутацій, а саме місенс- та нонсенс-мутації, сплайсингові мутації, делеції та інсерції, комбіновані мутації та рекомбінації у межах локусу. Мутації в різних ділянках гена виникають з різною частотою та істотно відрізняються за функціональним значенням: або призводять до повної відсутності ферментативної активності, або лише незначним чином змінюють структуру протеїна, і тоді спостерігається певна залишкова ферментативна активність. Тому ХГ, як і більшість спадкових хвороб обміну, характеризується значним клінічним поліморфізмом [6].

Першим етапом молекулярно-генетичного аналізу, як правило, є скринінг мажорних мутацій [3]. За даними літератури, найчастішими в гені *GBA* вважаються мутації N370S, L444P, 84GG, D409H, IVS2+1, R496H [6–9]. Сумарна частка таких мутантних алелів складає близько

96 % в популяції євреїв ашкеназі та близько 75 % в неєврейських популяціях [9]. У пацієнтів, які не мають єврейського походження, найчастіше (70 % випадків) зустрічаються мутації N370S, L444P та 84GG.

Метою нашої роботи було виявлення мажорних мутацій N370S, L444P та 84GG в гені *GBA* у пацієнтів з хворобою Гоше в Україні.

**Матеріали та методи.** Було обстежено 27 пацієнтів слов'янського походження з 26 родин із різних регіонів України. Використовували клінічні, біохімічні, морфологічні та молекулярно-генетичні методи дослідження.

Клінічне обстеження включало збір анамнезу, оцінку фенотипу пацієнтів та даних їхніх параклінічних досліджень, побудову родоводу з наступним генеалогічним аналізом.

Ферментативну активність глюкоцереброзидази визначали в лейкоцитах периферійної крові, хітотриозидази – в плазмі. Лейкоцити виділяли після обробки цільної крові 3 %-ним розчином декстрану, як описано Венгер та ін. [10]. Кількість білка в лейкоцитах визначали за стандартним методом Лоурі [11]. Глюкоцереброзидазну активність в лізаті лейкоцитів оцінювали за деградацією флюорогенного субстрату 4-метилумбелліферил- $\beta$ -D-глюкопіранозиду (Sigma) за методом Сузукі [12]. Хітотриозидазну активність плазми визначали за методом Гоу та ін. [13]. Результати вираховували для глюкоцереброзидазної активності у нмоль/год/мг білка, для хітотриозидазної активності – у нмоль/год/мл плазми. Інтерпретацію результатів ферментативних досліджень проводили у відповідності до алгоритма, запропонованого Горovenko та ін. [14, 15].

ДНК виділяли із цільної гепаринізованої крові з використанням комерційного набору «ДНК-сорб В» (ЦНДІ епідеміології МОЗ РФ). Якість препаратів ДНК перевіряли методом оцінки співвідношення оптичної щільності при 260 та 280 нм, яка визначалась на спектрофотометрі Specord-40 (Analytik Jena AG). Препарати ДНК зберігали при температурі +4 °С.

Молекулярно-генетичне дослідження проводили за методом «гніздової» ПЛР [16]. На першому етапі проводили ампліфікацію великої ділянки функціонального гена *GBA*, яка відповідає послідовності 8–11 екзонів. Для ампліфікації використовували олігонуклеотидний прай-

мер А: 5'-ACCACCTAGAGGGGAAAGTG-3', праймер В: 5'-TGTGTGCAAGGTCCAGGATC-AG-3' [17]. ПЛР проводили в об'ємі 50 мкл при стандартних умовах за допомогою автоматичного ампліфікатора Perkin Elmer (США) з використанням «гарячого» старту.

На другому етапі, використовуючи отриманий фрагмент як матрицю, ампліфікували ділянки: 1) для детекції мутації N370S – праймери 370F: 5'-CCTTTGTCTCTACCCCTCGA-3' та 370R: 5'-GACAAAGTTACGCACCCCAATT-3', температура відпалювання – 52 °С; 2) для детекції мутації L444P – праймери 444F: 5'-CAATTGGGGTGCGTAACSTTTGT-3' та 444R: 5'-TGCCCTCACCGGTTTAGC-3', температура відпалювання – 53 °С.

Для детекції мутації 84GG проводили ампліфікацію ділянки 2-го екзону – праймери 84F: 5'-GGAATGTCCCAAGCSTTTGA-3' та 84R: 5'-CACTGCCTGAAGTAGAAG-3', температура відпалювання – 52 °С.

Для ідентифікації вказаних мутацій використовували метод рестрикційного аналізу, який проводили за стандартним методом з використанням ендонуклеаз рестрикції XhoI, MspI, Bsa B1 (MBI Fermentas) відповідно. Реакцію рестрикції проводили в суміші такого складу: 18 мкл ампліфікату, 0,2 мкл ферменту рестрикції і 2 мкл відповідного буфера. Інкубацію проводили в мікротермостаті при 37 °С протягом 2 год. Зупиняли реакцію додаванням 0,4 мкл 0,5 М ЕДТА, рН 7,5.

Аналіз продукту першого етапу «гніздової» ПЛР проводили за допомогою електрофорезу в 1,5%-ному агарозному гелі, а продуктів рестрикційного аналізу – методом електрофорезу в 8- та 20%-ному поліакриламідному гелі з подальшим забарвленням розчином бромистого етидію в концентрації 10 г/л.

Візуалізацію та реєстрацію результатів електрофорезу проводили за допомогою ультрафіолетового транслюмінатора та відеосистеми з комп'ютерною програмою аналізу зображення «Біотест-А» («Біоком», Росія).

**Результати досліджень та їх обговорення.** Нами було проаналізовано результати обстеження групи пацієнтів із 26 родин (в одній родині обстежено двоє хворих сибсів) з різних регіонів України. Вік пацієнтів становив від 9 місяців до 51 року, з них 19 осіб жіночої ста-

ті та 8 осіб чоловічої статі. Всім пацієнтам на підставі характерної клінічної картини та наявності клітин Гоше в аспіратах кісткового мозку попередньо було виставлено клінічний діагноз — хвороба Гоше.

У більшості пацієнтів (48 %) маніфестація клінічних проявів ХГ припадала на вік від 3 до 8 років, у 37 % випадків хвороба маніфестувала до 3 років і у 15 % — у віці більше 8 років. Початковими клінічними симптомами захворювання були гепатоспленомегалія (52 %), первинні ознаки панцитопенії (32 %), кісткові кризи (16 %). За клінічною характеристикою появи симптомів та ступенем тяжкості розвитку хвороби було визначено, що у більшості пацієнтів (24 із 27) мав місце тип ХГ, ненейропатична форма, а у 3 осіб — III тип, хронічна нейропатична форма.

Для остаточного підтвердження діагнозу всі пацієнти були направлені до лабораторії медичної генетики Медико-генетичного центру УДСЛ «ОХМАТДИТ». З метою встановлення біохімічного дефекту було проведено визначення глюкоцереброзидазної активності в лейкоцитах та хітотриозидазної активності в плазмі крові. При аналізі глюкоцереброзидазної активності у переважній більшості пацієнтів (25 із 27) було виявлено зниження активності цього ферменту порівняно з контрольними значеннями, проте у плазмі крові всіх обстежених пацієнтів було виявлено патологічно високі значення хітотриозидазної активності [14]. Це дозволило остаточно підтвердити діагноз ХГ всім 27 пацієнтам.

При детальному порівнянні значень глюкоцереброзидазної активності не було виявлено залежності між рівнем залишкової активності та тяжкістю клінічного перебігу захворювання, що збігається з даними літератури [18].

Особливість молекулярної діагностики ХГ полягає в існуванні поруч з функціональним геном *GBA* псевдогена *psGBA*, що призводить до можливості утворення кросоверних обмінів між ними. Виникає необхідність чіткої локалізації виявленого мутантного алеля — він може знаходитись як у функціональному гені, так і у псевдогені, тобто при виявленні такої мутації у пацієнта без підтвердження її локалізації саме у функціональному гені виникає ймовірність хибнопозитивної діагностики ХГ, що під-

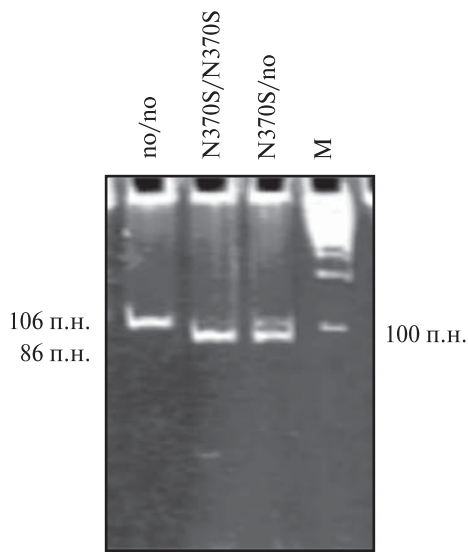
вищує невиправдані витрати на діагностичні та подальші лікувальні заходи.

У 1988 р. Горовіц з співавт. [4] проводили детальне дослідження структури гена *GBA* та псевдогена *psGBA* і показали, що ці два гени мають до 96 % гомології в кодувальній частині, тоді як деякі фрагменти інтронів гена *GBA* відсутні в *psGBA*. До них належать фрагменти 313 п.н. в другому інтроні, 626 п.н. в четвертому, 320 п.н. в шостому та 277 п.н. в сьомому інтроні. Крім того, за всією довжиною псевдогена зустрічаються однонуклеотидні заміни по відношенню до послідовності функціонального гена. Це дає можливість підібрати праймери для ампліфікації таким чином, щоб їхнє відпалювання відбувалося лише на гені *GBA*.

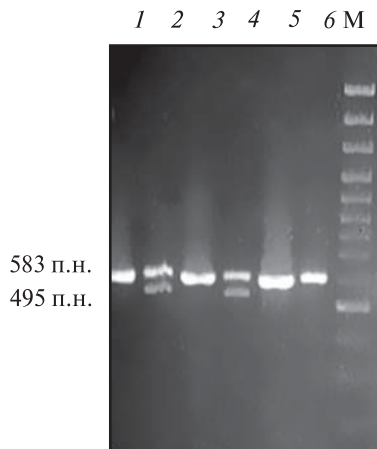
Особливу увагу було сконцентровано на регіоні, що охоплює ділянку з 8-го по 11-й екзони. У цьому регіоні локалізовані дві найчастіші мутації, асоційовані з ХГ — N370S та L444P [5]. Для уникнення впливу псевдогена *psGBA* на результати молекулярно-генетичного аналізу мутацій, в гені *GBA* було використано метод «гніздової» ПЛР, перша ампліфікація якої проходить виключно на функціональному гені *GBA* [17]. В інтроні 7 функціонального гена в позиції 5202 розташовано цитозин, тоді як у відповідній позиції псевдогена — тимін. Ця однонуклеотидна заміна не дозволяє проводити відпалювання праймера А на матриці псевдогена. Отже, відпалювання праймера проходить виключно на матриці функціонального гена *GBA*. Отриманий фрагмент використовували для подальшого скринінгу мажорних мутацій в гені *GBA*.

Для визначення мутації N370S використовували праймери 370R та 370F. В результаті проведення реакції ампліфікації утворюється фрагмент розміром 106 п.н., який в нормі не має сайту впізнавання для рестриктази XhoI. Заміна аденіна на гуанін у позиції 1226 кДНК призводить до утворення сайту впізнавання для цієї рестриктази, в результаті чого фрагмент розщеплюється на дві частини — 86 та 20 п.н. (рис. 1). Експресія *in vitro* гена *GBA* з цією мутацією в клітинах комарів показала, що зниження специфічної активності ферменту, що синтезується, обумовлено активацією негативно заряджених фосфоліпідів [19].

Для визначення мутації L444P використовували праймери 444R та 444F. В результаті про-



**Рис. 1.** Електрофореграма детекції мутації N370S в гені *GBA*: М – маркер молекулярної маси (100 bp, «Fermentas»); no/no – відсутність мутації N370S в обох алелях; N370S/no – гетерозигота за мутацією N370S; N370S/N370S – гомозигота за мутацією N370S. Зразки оброблені рестриктазою *Xho*I



**Рис. 2.** Електрофореграма детекції мутації L444P в гені *GBA*: М – маркер молекулярної маси (100 bp, «Fermentas»); 2, 4 – гетерозигота за мутацією L444P; 1, 3, 5, 6 – відсутність мутації L444P в обох алелях. Зразки оброблені рестриктазою *Msp*I

ведення реакції ампліфікації утворюється фрагмент розміром 583 п.н., який в нормі не має сайту впізнавання для рестриктази *Msp*I. Заміна тиміну на цитозин в позиції 1448 кДНК призводить до утворення сайту впізнавання для цієї

рестриктази, в результаті чого фрагмент розщеплюється на дві частини – 495 та 88 п.н. (рис. 2). Лейцин в положенні 444 розташований у каталітичному домені глюкоцереброзидази, тому порушення структури білка у цьому районі призводить до нестабільності, яка спричиняє дуже низьку залишкову активність ферменту [19]. Це пояснює тенденцію до ускладнень у перебігу захворювання або появи неврологічних проявів у хворих з мутацією L444P, особливо в гомозиготному стані.

В 1990 р. Бьютлер та ін. [19] описали інсерцію одиничного гуаніну в позиції 84 кДНК в другому екзоні гена *GBA*, яка призводить до зсуву рамки зчитування та передчасної термінації транскрипції. Для визначення мутації 84GG використовували праймери 84F та 84R. В ході реакції ампліфікації утворюється фрагмент довжиною 75 п.н., який в нормі не має сайту впізнавання для ендонуклеази *Vsa*VI. Інерція 84GG призводить до утворення сайту впізнавання для цієї рестриктази, в результаті чого фрагмент розщеплюється на дві частини – 57 та 18 п.н.

Аналіз результатів проведеного нами молекулярного обстеження пацієнтів ХГ (табл. 1) показав, що частка алелів, що несуть мутацію N370S, була найбільшою і склала 22/52 (42,3 %). Чотири пацієнти були гомозиготними носіями цього алеля, 14 пацієнтів – гетерозиготами і мали в другому алелі іншу мутацію. У восьми пацієнтів не було виявлено жодного алеля з мутацією N370S.

Частка алелів, що несуть мутацію L444P, у обстежених нами пацієнтів з ХГ становила 8/52 (15,4 %). В нашій групі не було знайдено жодного пацієнта, гомоалельного за мутацією L444P. Компундних гетерозигот серед наших пацієнтів було 8 осіб, з яких 6 мали генотип N370S/L444P.

Молекулярно-генетичний аналіз, проведений нами у пацієнтів з ХГ в Україні, не виявив жодного алеля з мутацією 84GG. Цю мутацію досить часто знаходять як одиничну копію у комплексних гетерозигот. Частота цього патологічного алеля серед пацієнтів єврейського походження становить 13 %.

Спектр мутацій в гені *GBA* серед пацієнтів з ХГ в різних популяціях істотно відрізняється. Існують певні етнічні особливості і за частотою мажорних мутацій (табл. 2). Середньоевропей-



ська частота мутації N370S становить 40,5 % від загальної кількості досліджених алелів, тоді як серед японських пацієнтів не знайдено жодного алеля з цією мутацією. Мутація L444P знаходиться на другому місці за частотою серед європейських пацієнтів (24,2 %), а мутація 84GG зустрічається в цьому регіоні дуже рідко (0,4 %). Для пацієнтів єврейського походження, навпаки, саме мутація 84GG знаходиться на другому місці за частотою, після N370S.

Серед досліджених нами хворих найрозповсюдженішою була мутація N370S. Знайдена вона у 42,3 % алелів, що добре узгоджується з даними для європейських популяцій. Мутація L444P серед наших хворих зустрічалась з частотою 15,4 %, що дещо нижче, ніж представлені в літературі дані для неєврейських популяцій. Відсутність жодного з алелів, які б несли мутацію 84GG в наших дослідженнях, підтверджує гіпотезу про панетнічне поширення цієї мутації серед євреїв ашкеназі. Таким чином, сумарна частка знайдених в українських пацієнтів мажорних алелів, які несли мутації N370S та L444P, склала майже 58 %.

П'ять пацієнтів, у яких не виявлено мажорних мутацій в одному або обох алелях, були обстежені в лабораторії молекулярної діагностики Childrens Hospital and Regional Medical Center

(США). У двох пацієнтів (Л.Л. та Д.І.) знайдено рідкісні мутації в одному алелі, P178S та W184R відповідно, у компаунді з N370S. Один пацієнт (М.Д.) мав рідкісні мутації в обох алелях (генотип G377S/c 999G→A). Пацієнт М.С. мав рідкісну мутацію D409H в одному алелі і комплекс з двох рідкісних мутацій, R120W та G202R, – в другому. Пацієнт М.М. в одному алелі мав мажорну мутацію N370S, а в другому – комплексну мутацію Rec Nci I (L444P, A456P, V460V).

За даними літератури, мутація N370S зустрічається в більшості випадків у пацієнтів з I типом ХГ [3]. При виникненні цієї мутації

Таблиця 1  
Молекулярно-генетичне обстеження пацієнтів з ХГ в Україні

Генотип	Тип ХГ	Кількість пацієнтів
N370S/ N370S	I	4
N370S/R*	I	3
N370S/?	I	5
N370S/L444P	I	6
L444P/?	I	2
R*/R*	III	2
?/?	I, III	4

Таблиця 2  
Частота мутацій N370S, L444P та 84GG в гені *GBA* у різних популяціях

Країна	Загальна кількість досліджених алелів	Частота мутантних алелів, %			Сумарна частота, %	Джерело інформації
		N370S	L444P	84GG		
<i>Європейський регіон</i>						
Велика Британія	54	26	35	2	63	[9]
Росія	110	45,6	20	0	65,6	[20]
Чехія та Словаччина	58	48,3	19	0	67,3	[21]
Польща	68	26	37	2	65	[22]
Україна	52	42,3	15,4	0	57,7	Власні дослідження
Румунія	40	50	22,2	0	72,2	[7]
Італія	288	36	27,4	0	63,4	[23]
Іспанія	102	55	15	0	70	[24]
Туреччина	34	35,3	26,5	–	61,8	[25]
В середньому по Європі		40,5	24,2	0,4	65,1	
<i>Інші регіони</i>						
Аргентина	62	46,7	6,5	3,2	56,4	[26]
Японія	44	0	44	0	44	[27]
Євреї ашкеназі	200	77	3	13	93	[2]

синтезується фермент з певною залишковою каталітичною активністю, що і обумовлює легкий перебіг захворювання, особливо в гомозиготному стані. Усі обстежені нами пацієнти, що несли мутацію N370S в обох алелях, мали І тип захворювання (ненейропатичний) з легким клінічним перебігом. У пацієнтів з мутацією N370S в одному алелі тяжкість перебігу хвороби в певній мірі залежала від мутації в другому алелі. Пацієнти з генотипом N370S/L444P (6 осіб) характеризувались середньою тяжкістю перебігу захворювання, як і 3 пацієнти з рідкісними мутаціями у компаунді з N370S.

Мутація L444P виявляється у пацієнтів всіх трьох типів ХГ, але найчастіше зустрічається при нейропатичних формах [3]. Ця мутація пов'язана з синтезом нестабільного ферменту, а у гомозиготному стані – взагалі з втратою активності, що і призводить до важких форм ХГ. Однак у нашій групі пацієнтів з ІІІ типом ХГ (3 особи) не було виявлено жодного алеля з мутацією L444P. Пацієнт М.С. мав складну комбіновану мутацію D409H/R120W/G202R, всі складові якої асоціюються з тяжким клінічним перебігом [22, 28, 29]. Цікавим є виявлення у пацієнтки М.Д. з ІІІ типом ХГ нової мутації с. 999G→А в 7-му екзоні гена *GBA*, яка знаходилась у компаунді з рідкісною G377S. При обстеженні третього пацієнта з ІІІ типом ХГ (пацієнт Н.Т.) мажорних мутацій не було знайдено. Невелика кількість пацієнтів з ІІІ типом ХГ не дає можливості розцінювати відсутність у них мутації L444P як певні особливості генотипу хворих українського походження.

На сьогодні 15 алелів у пацієнтів з ХГ не визначені, що потребує подальших досліджень із залученням інших методів молекулярної діагностики. Це дозволить доповнити інформацію про генотип-фенотипові кореляції пацієнтів з ХГ в Україні.

**Висновки.** Частота мажорних мутацій N370S та L444P серед обстежених нами пацієнтів з ХГ в Україні добре узгоджується з середньоєвропейськими частотами для популяцій неєврейського походження. Відсутність мутації 84GG серед обстежених нами пацієнтів підтверджує панетнічне розповсюдження цієї мутації серед євреїв ашкеназі. Перебіг захворювання у пацієнтів з генотипом N370S/N370S підтверджує асоціацію цієї мутації з легкою

формою захворювання. Серед українських пацієнтів з ІІІ типом ХГ (нейропатичним) не було знайдено жодного алеля з характерною для цієї форми хвороби мутацією L444P, але невелика кількість хворих (3 особи) не дозволяє робити висновки про особливості генотипу українських пацієнтів. Молекулярно-генетичне дослідження повинно бути важливим етапом алгоритму діагностики ХГ та медико-генетичного консультування сімей, обтяжених цією патологією, бо дозволяє не тільки остаточно підтвердити діагноз, але і, незважаючи на певний клінічний поліморфізм, прогнозувати важкість перебігу захворювання.

*Автори щиро вдячні лікарям медико-генетичного та онко-гематологічного центрів УДСЛ «ОХМАТДИТ» за надану клінічну інформацію. Особлива вдячність фірмі «Genzyme» за допомогу в організації проведення молекулярних досліджень, а також лабораторії молекулярної діагностики Childrens Hospital and Regional Medical Center (США) за надану інформацію про молекулярні дослідження п'яти пацієнтів.*

**SUMMARY.** The molecular diagnostics of 27 from 26 Ukrainian families has been performed. The common mutations in *GBA* gene (N370S, L444P and 84GG) accounted for up to 58 % of all cases: mutation N370S was detected in 42,3 % alleles, mutation L444P was observed in 15,4 % alleles and mutation 84GG was not found at all. The other mutations were: P178S, W184R and Rec Nci I (in compounds with N370S) in the patients with nonneuronopathic form of Gaucher disease, and the genotypes G377S/c 999G → A and D409H/R120W/G202R were detected in patients with chronic neuronopathic form of Gaucher disease. The data analysis of the genotype and disease progression in the patients allows confirming the known genotype-phenotype correlation.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Басистова А.А., Ланга И.Н., Смирнова Г.В. Современный взгляд на лизосомальные болезни и болезнь Гоше // Педиатрия. – 1999. – № 4. – С. 90–93.
2. Germain D.P. Gaucher's disease: a paradigm for interventional genetics // Clin Genet. – 2004. – 65, № 2. – P. 77–86
3. Beutler E., Grabowski G.A. Gaucher disease. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease / Eds C.R. Scriver, A.L. Beaudet, W.S. Sly, D.Valle. – New York : McGraw-Hill, 2001. – P. 3635–3668.
4. Horowitz M., Wildre S., Horowitz Z., Reiner O., Gelbart T., Beutler E. The human glucocerebrosidase gene and

- pseudogene : Structure and evolution // Genomics. — 1989. — 4, № 1. — P. 87—96.
5. Montfort M., Chaba's A., Vilageliu L., Grinberg D. Functional analysis of 13 GBA mutant alleles identified in gaucher disease patients : Pathogenic changes and «modifier» polymorphisms // Hum. Mutat. — 2004. — 23. — P. 567—575.
  6. Бейер Е.М., Букина Т.М., Цветкова И.В. Биохимическая и генетическая диагностика болезни Гоше и фенотипическая гетерогенность заболевания // Вопр. мед. химии. — 2000. — 46, № 5. — С. 451—454.
  7. Drugan C., Procopciuc L., Jebeleanu G., Grigorescu-Sido P., Dussau I., Poenaru L., Caillaud C. Gaucher disease in Romanian patients: incidence of the most common mutations and phenotypic manifestations // Eur. J. Hum. Genet. — 2002. — 10, № 9. — P. 511—515.
  8. Sidransky E., Tayebi N., Ginnes E.I. Diagnosing Gaucher disease // Clin. Pediat. — 1995. — 34, № 7. — P. 365—371.
  9. Walley A., Barth M.L., Ellis I., Fensom A.H., Harris A. Gaucher's disease in United Kingdom: screening non-Jewish patients for the two common mutations // J. Med. Genet. — 1993. — 30. — P. 280—283.
  10. Wenger D.A., Williams C. Screening for lysosomal disorders // Techniques in Diagnostics of Human Biochemical Genetics. — New York : Wiley-Liss, 1991. — P. 587—619.
  11. Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К. Справочник биохимика. — М.: Мир, 1991. — 543 с.
  12. Suzuki K. Enzymic Diagnosis of Sphingolipidoses // Methods in Enzymology. — New York : Acad. press, 1978. — 50. — P. 475—480.
  13. Guo Y., He W., Boer A.M. et al. Elevated plasma chitotriosidase activity in various lysosomal storage disorders // J. Inher. Metab. Dis. — 1995. — 18. — P. 717—722.
  14. Горovenко Н.Г., Дроздова В.Д., Недобой А.М., Ольхович Н.В., Пічкур Н.О., Циганкова М.А., Радзіховська О.В. Можливість підвищення точності біохімічної діагностики хвороби Гоше // Цитология и генетика. — 2006. — 40, № 3. — С. 67—71.
  15. Горovenко Н.Г., Недобой А.М., Ольхович Н.В., Іванова Т.П., Кочнева О.М., Пічкур Н.О., Грегуль І.С. Визначення хітотриозидазної активності в плазмі крові як критерій підтверджуючої діагностики хвороби Гоше // Вісн. Укр. т-ва генетиків і селекціонерів. — 2006. — 4, № 1. — С. 68—75.
  16. Молекулярная клиническая диагностика : Методы. — М.: Мир, 1999. — 291 с.
  17. Stone D.L., Tayebi N., Orvisky E. et al. Glucocerebrosidase gene mutations in patients with type 2 Gaucher disease // Hum. Mutat. — 2000. — 15. — P. 181—188.
  18. Недобой А.М., Ольхович Н.В., Горovenко Н.Г. Особливості біохімічної діагностики хвороби Гоше на сучасному етапі // Зб. наук. пр. співробітників КМАПО ім. П. Л. Шупика. — Київ, 2004. — Вип.13, кн.5. — С. 300—306.
  19. Cox T.M. Gaucher disease: understanding the molecular pathogenesis of sphingolipidoses // J. Inher. Metab. Dis. — 2001. — 24 (Suppl.2). — P. 106—112.
  20. Букина Т.М. Биохимическая и молекулярно-генетическая характеристика болезни Гоше у российских пациентов : Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 2005. — 16 с.
  21. Hodanova K. et al. Analysis of the  $\beta$ -glucocerebrosidase gene in Czech and Slovak Gaucher patients: mutation profile and description of six mutant alleles // Blood Cells, Mol., and Dis. — 1999. — 25, № 18. — P. 287—298.
  22. Tylki-Szymanska A., Millat G., Maire I., Czartoryska B. Types I and III Gaucher disease in Poland: Incidence of the most common mutations and phenotypic manifestations // Eur. J. Hum. Genet. — 1996. — 4. — P. 334—337.
  23. Colombo R. Age estimate of the N370S mutation causing Gaucher disease in Ashkenazi Jews and European populations // Amer. J. Hum. Genet. — 2000. — 66. — P. 692—697.
  24. Alfonso P., Cenarro A. et al. Mutation prevalence among 51 unrelated spanish patients with Gaucher disease: Identification of 11 novel mutations // Blood Cells, Mol. and Dis. — 2001. — 27, № 5. — P. 882—891.
  25. Gurakan F., Terzioglu M., Kocak N., Yuce A., Ozen H., Ciliz G., Emre S. Analysis of three mutations in Turkish children with Gaucher disease // J. Inher. Metab. Dis. — 1999. — 22. — P. 947—948.
  26. Cormand B., Harboe T.L., Gort L., Campoy C., Blanco M., Chamoles N. et al. Mutation analysis of Gaucher disease patients from Argentina : High prevalence of the RecNciI mutation // Amer. J. Med. Genet. — 1998. — 80. — P. 343—351.
  27. Ida H., Rennert O.M., Ito T., Maekawa K., Eto Y. Type 1 Gaucher disease: phenotypic expression and natural history in Japanese patients // Blood Cells, Mol. and Dis. — 1998. — 24, № 5. — P. 73—81.
  28. Brautbar A., Elstein D., Abrahamov A., Zeigler M et al. The 1604 (R496H) mutation in Gaucher disease: genotype/phenotype correlation // Blood Cells, Mol. and Dis. — 2003. — 31. — P. 187—189.
  29. Cormand B., Grinberg D., Gort A., Chabas A., Vilageliu L. Molecular analysis and clinical findings in the Spanish Gaucher disease population: Putative haplotype of the N370S ancestral chromosome // Hum. Mutat. — 1998. — 11. — P. 295—305.

Надійшла 25.10.06