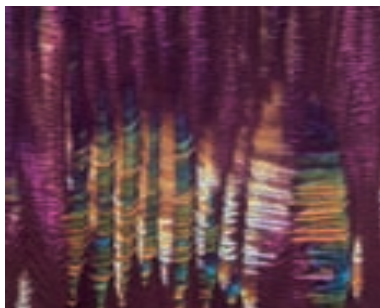


> La prévalence de la maladie de Fabry est très faible dans la population générale. Toutefois, la détermination de l'activité de l' α -galactosidase A présente un intérêt dans les populations à risque. <

Intérêt et limites de la détermination de l'activité enzymatique de l' α -galactosidase A dans les populations à risque pour la maladie de Fabry

Éric Caudron, Jiang-Yan Zhou, Dominique P. Germain, Patrice Prognon

La maladie de Fabry est une maladie génétique liée au chromosome X qui se caractérise par l'accumulation de globotriaosylcéramide (Gb₃) et galabiosylcéramide (Ga₂) à la suite d'une mutation du gène *GLA* codant pour l' α -galactosidase A. Le dosage de l'activité enzymatique de l'enzyme déficiente permet le diagnostic de la maladie chez les hommes hémizygotés (activité résiduelle toujours inférieure à 20 % de la normale). En revanche, le diagnostic chez les femmes hétérozygotés est moléculaire, par l'identification de la mutation du gène *GLA*. En effet, la détermination de l'activité enzymatique chez les hétérozygotés peut conduire à des résultats très variables, allant théoriquement d'une activité nulle à normale, en fonction de l'inactivation fonctionnelle aléatoire, dans chaque cellule d'un organisme féminin, de l'un des deux chromosomes X [1].



Chez les hétérozygotés dont les signes cliniques sont en général plus tardifs et moins sévères et chez certains hémizygotés dits atypiques, la maladie peut prendre une forme particulière et se limiter à des manifestations cliniques modérées ou limitées à l'atteinte d'un organe. On définit ainsi le variant cardiaque (cardiomyopathie hypertrophique ou remodelage ventriculaire gauche), le variant rénal (protéinurie, insuffisance rénale progressive) et le variant vasculaire (accident vasculaire cérébral inaugural).

Dans ce contexte, le dosage de l'activité enzymatique est un outil qui peut être utilisé pour le dépistage des hémizygotés atypiques et des hétérozygotés, sachant toutefois qu'une activité normale chez ces dernières n'exclut pas formellement l'absence de la maladie.

La prévalence estimée de la maladie de Fabry dans la population générale étant faible puisqu'elle se situe autour d'une naissance sur 100 000, une campagne de dépistage néonatal systématique n'aurait donc aucun sens. En revanche, les prévalences observées dans certaines populations à risque, présentant des signes cliniques compatibles avec les

complications de la maladie de Fabry, sont beaucoup plus importantes. La première étude prospective, menée sur le variant cardiaque en 1995 (230 patients japonais présentant une hypertrophie ventriculaire gauche) a montré une prévalence de 3% [2]. Deux autres études ont été réalisées sur des patients présentant une cardiomyopathie hypertrophique, l'une sur une population de 153 hommes [3] et l'autre de 34 femmes [4], montrant des prévalences de 3,9% et de 12% respectivement. La méthodologie employée dans la dernière étude est toutefois questionnable devant faire interpréter avec beaucoup de prudence ce chiffre de 12%, très probablement surévalué. Des études sur de plus larges cohortes ont été menées sur le variant rénal dans des populations de patients hémodialysés chroniques. Les prévalences calculées dans des populations d'hommes de 514 patients japonais [5] et 508 hollandais [6] sont de 1,2% et 0,22% respectivement. Une étude autrichienne sur 2 480 hommes et femmes hémodialysés, représentant 80,1% de la population des hémodialysés du pays permet de calculer une prévalence de 0,16% (4 hommes sur 1 516 et 0 femme sur 964). Il appa-

É. Caudron, J.Y. Zhou, P. Prognon :
Groupe de Chimie Analytique de Paris Sud, EA 3343, Laboratoire de Chimie Analytique, Faculté de Pharmacie, 5, rue Jean Baptiste Clément, 92296 Châtenay-Malabry, France.

D.P. Germain : Groupe de Chimie Analytique de Paris Sud, EA 3343, Laboratoire de Chimie Analytique, Faculté de Pharmacie, 5, rue Jean Baptiste Clément, 92296 Châtenay-Malabry, France et Unité Fonctionnelle de Génétique Clinique, Hôpital Européen Georges Pompidou, 20, rue Leblanc, 75015 Paris, France.
patrice.prognon@cep.u-psud.fr



raît donc que ces prévalences précédemment publiées à partir de registres d'hémodialysés européens et américains (données rétrospectives) et qui sont inférieures à 0,02 %, sont largement sous-estimées en absence de dépistage systématique. Bien que les prévalences dans ces populations à risque soient relativement faibles (comprises entre 0,16 et 3,9 %) et vraisemblablement plus proches de la limite inférieure de cet intervalle, le dépistage systématique dans ces populations se justifie par le fait qu'il peut non seulement permettre de poser un diagnostic pour le cas index mais aussi d'ouvrir des possibilités de prévention pour ses apparenté(e)s après recueil et construction de l'arbre généalogique. Un diagnostic précoce avant apparition des signes cliniques de la maladie, devient ainsi possible pour des sujets qui ne se savaient pas à risque. Ces programmes de dépistage de malades non diagnostiqués dans des populations à risque sont d'autant plus intéressants que la maladie de Fabry est l'une des rares maladies orphelines qui possède un traitement spécifique par substitution de l'enzyme déficiente [7].

L' α -galactosidase A est une enzyme lysosomale hydrolytique impliquée dans le catabolisme des glycosphingolipides. La Figure 1A illustre la réaction d'hydrolyse de l' α -galactose en position terminale du Gb₃, substrat majoritairement accumulé dans la maladie de Fabry. Afin de réaliser les mesures de l'activité enzymatique de l' α -galactosidase A dans différentes matrices biologiques, les techniques existantes sont nombreuses. Le dosage de l'activité enzymatique consiste en la mesure du produit issu de la réaction enzymatique. Une première approche est fondée sur la quantification du galactose : en présence de l'enzyme fonctionnelle, le galactose libéré par le Gb₃ subit une déshydrogénation par une galactose déshydrogénase en présence de NAD⁺. Lors de cette réaction, le NAD⁺ est réduit en NADH, H⁺, molécule dont l'absorbance à 340 nm est proportionnelle à la quantité de galactose. Toutefois, cette technique est peu sensible et peu spécifique. Une autre approche a consisté en un radio-marquage spécifique au tritium de la position 6 du galactose en position terminale du Gb₃, l'activité enzymatique étant calculée par la mesure de la radioactivité du galactose libéré. Cette technique, relative-

ment longue, est très peu utilisée en raison des contraintes de radio-protection qui lui sont associées. Les techniques les plus utilisées font appel à l'utilisation de substrats artificiels dont le produit de la réaction possède des propriétés spectrales exploitables en milieu biologique complexe. Citons le p-nitrophényl- α -galactose qui, en présence de l'enzyme fonctionnelle, libère une molécule de p-nitrophénol dont le maximum d'absorbance se situe à 405 nm. Toutefois le substrat artificiel le plus largement utilisé est le 4-méthyl umbelliféryl- α -galactose qui libère le 4-méthyl umbelliféron, molécule fluorescente (longueur d'onde d'excitation λ_{ex} = 360 nm ; longueur d'onde d'émission $\lambda_{ém}$ = 446 nm) en milieu alcalin (Figure 1B). Les mesures de fluorescence présentent l'avantage d'être sensibles et spécifiques par leurs longueurs d'ondes d'excitation et d'émission. Par ailleurs, le risque d'interférences est réduit car peu de molécules sont fluorescentes dans les matrices biologiques. L'utilisation d'un substrat artificiel produisant une molécule fluorescente associé à un traitement de l'échantillon adapté (assurant une bonne conservation de l'enzyme et permettant de s'affranchir des interférents biologiques) apparaît donc comme la technique de choix pour la détermination des activités enzymatiques sur de grandes séries de prélèvements correspondant à des populations à risques. \diamond

SUMMARY

Interest and limits of determination of α -galactosidase A enzymatic activity in population at risk for Fabry disease

The prevalence of Fabry disease is low in the regular population. However the determination of the α -galactosidase A activity is of interest in the populations at risk. \diamond

RÉFÉRENCES

1. Lyon MF. Gene action in the X-chromosome of the mouse (*Mus musculus* L.). *Nature* 1961 ; 190 : 372-3.
2. Nakao S, Takenada T, Maeda M, et al. An atypical variant of Fabry's disease in men with left ventricular hypertrophy. *N Engl J Med* 1995 ; 333 : 288-93.
3. Sachdev B, Takenada T, Teraguchi H, et al. Prevalence of Anderson-Fabry disease in male patients with late onset hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 2002 ; 105 : 1407-11.
4. Chimenti C, Pieroni M, Morgante E, et al. Prevalence of Fabry disease in female patients with late-onset hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 2004 ; 110 : 1047-53.
5. Nakao S, Kodama C, Takenaka T, et al. Fabry disease : detection of undiagnosed hemodialysis patients and identification of a renal variant phenotype. *Kidney Int* 2003 ; 64 : 801-7.
6. Linthorst GE, Hollak CEM, Korevaar JC, et al. Alpha-galactosidase A deficiency in Dutch patients on dialysis : a critical appraisal of screening for Fabry disease. *Nephrol Dial Transplant* 2003 ; 18 : 581-4.
7. Kotanko P, Kramar R, Devrnja D, et al. Results of a nationwide screening for Anderson-Fabry disease among dialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2004 ; 15 : 1323-9.
8. Wilcox WR, Banikazemi M, Guffon N, et al. Long-term safety and efficacy on enzyme replacement therapy for Fabry disease. *Am J Hum Genet* 2004 ; 75 : 65-74.

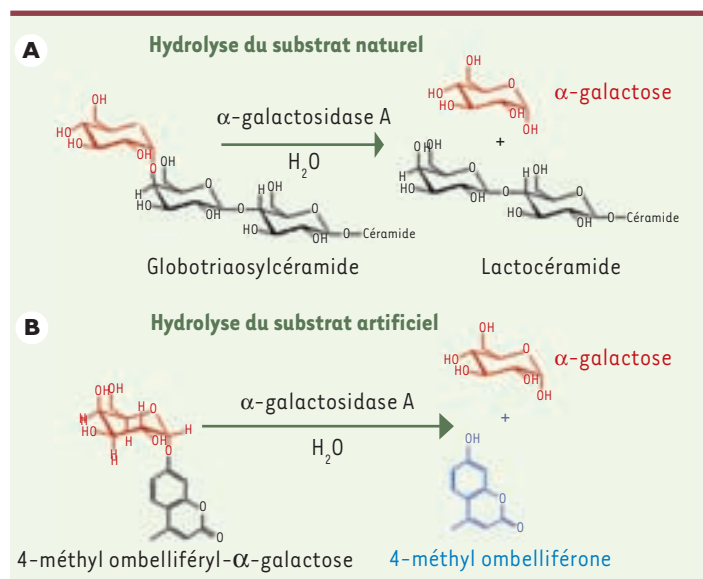


Figure 1. Hydrolyse d'un substrat naturel (A) et d'un substrat artificiel (B) de l' α -galactosidase A.

TIRÉS À PART

P. Prognon