



Mayor frecuencia de variantes génicas en el gen de la galactocinasa en una serie de casos del norte de México con galactosemia

Higher frequency of gene variants in the galactokinase gene in a series of cases from northern Mexico with galactosemia

Graciela Areli López-Uriarte,* Ana Cecilia Ortiz-Figueroa,* Geovana Calvo-Anguiano,* Alejandra Sánchez-Peña,* María del Rosario Torres-Sepúlveda,* José de Jesús Lugo-Trampe,* Laura Elia Martínez-de Villarreal*

* Departamento de Genética de la Facultad de Medicina y Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”, Universidad Autónoma de Nuevo León. Nuevo León, México.

RESUMEN

Introducción: La galactosemia es un error innato del metabolismo de la galactosa, causado por la deficiencia de alguna de las enzimas GALT, GALK1, GALE y GALM. En este estudio se presentan seis casos con galactosemia y su caracterización clínica, bioquímica y molecular. **Material y métodos:** Se presentan los datos clínicos de seis pacientes con galactosemia y se describe el tratamiento nutricional y seguimiento. El diagnóstico se realizó con tamiz neonatal ampliado. A los pacientes con una medición de galactosa total > 10 mg/dL, se les realizó la prueba de Beutler. El análisis molecular para los genes GALT, GALE y GALK por secuenciación Sanger. **Resultados:** Tres pacientes presentaron datos clínicos al momento de su diagnóstico, dos con cuadro agudo neonatal, el tercero, con datos crónicos, pero el diagnóstico fue en edad escolar. Los otros tres pacientes estaban asintomáticos. A todos se ofreció tratamiento nutricional a base de eliminación de galactosa. En cuatro pacientes se identificaron variantes patogénicas bialélicas en GALK1 y uno en GALT. En el sexto paciente se detectó una delección intrónica en homocigosis en GALK1, clasificada como SNP. **Conclusiones:** La galactosemia tiene un espectro clínico variable, por lo cual para su diagnóstico se requiere tanto de su detección por tamiz metabólico como por la identificación de un cuadro clínico compatible. Como parte del abordaje, el

ABSTRACT

Introduction: Galactosemia is an inborn error of galactose metabolism, caused by the deficiency of some of the enzymes GALT, GALK1, GALE and GALM. In this study, six cases with galactosemia and their clinical, biochemical and molecular characterization are presented. **Material and methods:** The clinical data of six patients with galactosemia are presented, as well as the nutritional treatment and follow-up are described. The diagnosis was made with an expanded neonatal screen. In patients with a total galactose measurement > 10 mg / dL, the Beutler test was performed. Molecular analysis for the GALT, GALE and GALK genes was performed by Sanger sequencing.

Results: Three patients presented clinical data at the time of diagnosis, two with acute neonatal symptoms, the third with chronic symptomatology, reaching diagnosis at school age. The other three were asymptomatic. All six patients were offered nutritional treatment based on the elimination of galactose. In four patients, biallelic pathogenic variants were identified in GALK1 and one in GALT. In the sixth patient, a homozygous intronic deletion was detected in GALK1, classified as SNP. **Conclusions:** Galactosemia has a variable clinical spectrum, therefore, its diagnosis requires both its detection by metabolic screening and the identification of a compatible clinical picture. As part of the

Correspondencia: Graciela Areli López-Uriarte, E-mail: gracielin@hotmai.com / glopezu@uanl.edu.mx

Citar como: López-Uriarte GA, Ortiz-Figueroa AC, Calvo-Anguiano G, Sánchez-Peña A, Torres-Sepúlveda MR, Lugo-Trampe JJ et al. Mayor frecuencia de variantes génicas en el gen de la galactocinasa en una serie de casos del norte de México con galactosemia. Rev Mex Pediatr. 2021; 88(4): 143-148. <https://dx.doi.org/10.35366/102778>



aspecto genético es básico a fin de ofrecer asesoramiento genético individualizado.

Palabras clave: Galactosemia, tamiz metabólico neonatal, errores innatos del metabolismo, galactocinasa, variantes génicas.

approach, the genetic aspect is essential in order to offer individualized genetic counseling.

Keywords: Galactosemia, neonatal metabolic screening, inborn errors of metabolism, galactokinase, gene variants.

INTRODUCCIÓN

La galactosemia es un error innato del metabolismo de la galactosa,¹ causado por la deficiencia de alguna de las siguientes enzimas: galactosa-1-fosfato uridil transferasa (*GALT*), galactocinasa (*GALK1*) o UDP-galactosa 4-epimerasa (*GALE*), y de la galactosa mutarotasa (*GALM*) (*Figura 1*),² las cuales tienen un tipo de herencia autosómica recesiva. El defecto más frecuente ocurre en *GALT*, conocido como galactosemia clásica, con alrededor de 300 variantes patogénicas reportadas, que modifican su actividad enzimática.³

La frecuencia de galactosemia reportada es variable y depende de la población estudiada. En Estados Unidos de América se estima que ocurre en 1:48,000 recién nacidos vivos,⁴ en Irlanda es de 1:16,476,⁵ y en el estado de Nuevo León, México, en 1:42,264.⁶

Los datos clínicos de galactosemia pueden presentarse desde el periodo neonatal, con ictericia, vómito, rechazo a la alimentación y diarrea. Si los pacientes no son tratados, pueden evolucionar a insuficiencia hepática, choque séptico y la muerte.⁷ De forma crónica, la galactosemia puede producir complicaciones en múltiples tejidos y órganos, incluyendo ovarios y cerebro.⁸ Sin embargo, la presentación clínica puede variar ampliamente, desde pacientes asintomáticos en las formas más leves.³

Una vez confirmado el diagnóstico, el tratamiento consiste en la restricción de la galactosa en la dieta;³ sin embargo, a pesar de la terapia nutricional, los pacientes pueden mostrar trastornos del lenguaje y cognitivos, lo cual se relaciona con retraso en el diagnóstico.⁹

Los pacientes con galactosemia pueden detectarse al efectuar un tamiz neonatal ampliado que incluya la detección de galactosemia.¹⁰⁻¹³ En Nuevo León, México, el tamiz neonatal ampliado se ha realizado en los hospitales de la Secretaría de Salud del año 2011 al 2017, mientras que en el Hospital Universitario se sigue realizando con la detección de 39 enfermedades diferentes, como galactosemia, aminoacidopatías, trastornos de la beta oxidación de los ácidos grasos, acideñas orgánicas, deficiencia de biotinidasa, deficiencia

de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa, fibrosis quística, hipotiroidismo congénito e hiperplasia suprarrenal congénita.

Además de la identificación por tamiz neonatal, los pacientes con galactosemia se pueden diagnosticar cuando presentan cuadro clínico compatible, así como por antecedentes familiares, ya que existe 25% de riesgo de recurrencia en casos familiares.

El objetivo de este trabajo es dar a conocer los datos clínicos, bioquímicos y moleculares de seis pacientes con galactosemia, quienes fueron diagnosticados en diferentes momentos de la enfermedad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los seis pacientes fueron identificados entre abril de 2012 y septiembre de 2016 en el Hospital Universitario “Dr. José E. González” de la Universidad Autónoma de Nuevo León, quienes han sido atendidos en la consulta de genética.

Los casos que fueron detectados en el periodo neonatal fue mediante toma de muestra para el tamiz neonatal ampliado. Para su determinación, la sangre capilar se obtuvo mediante la punción de talón y fue recolectada en un papel filtro Whatman 903™ en los primeros tres días de vida. Para los niños mayores de un mes de edad, se tomó una muestra de sangre capilar del pulpejo del cuarto dedo de una de las manos, también en papel filtro, con dos horas de ayuno. Las muestras fueron procesadas para la cuantificación de galactosa total (GAOS) mediante el método de fluorescencia, con fluorómetro VICTOR 2D PerkinElmer® utilizando un estuche PerkinElmer.

A los pacientes con galactosa total > 10 mg/dL (valor de referencia) se les hizo seguimiento para la confirmación bioquímica de la galactosemia, para lo cual se realizó prueba cualitativa de la actividad enzimática de *GALT* (prueba Beutler), que determina el porcentaje funcional de la enzima. La prueba de Beutler se realizó en papel filtro Whatman #1, previamente impregnado con una solución de sulfato de amonio y secado. La actividad de la enzima se midió a tiempos

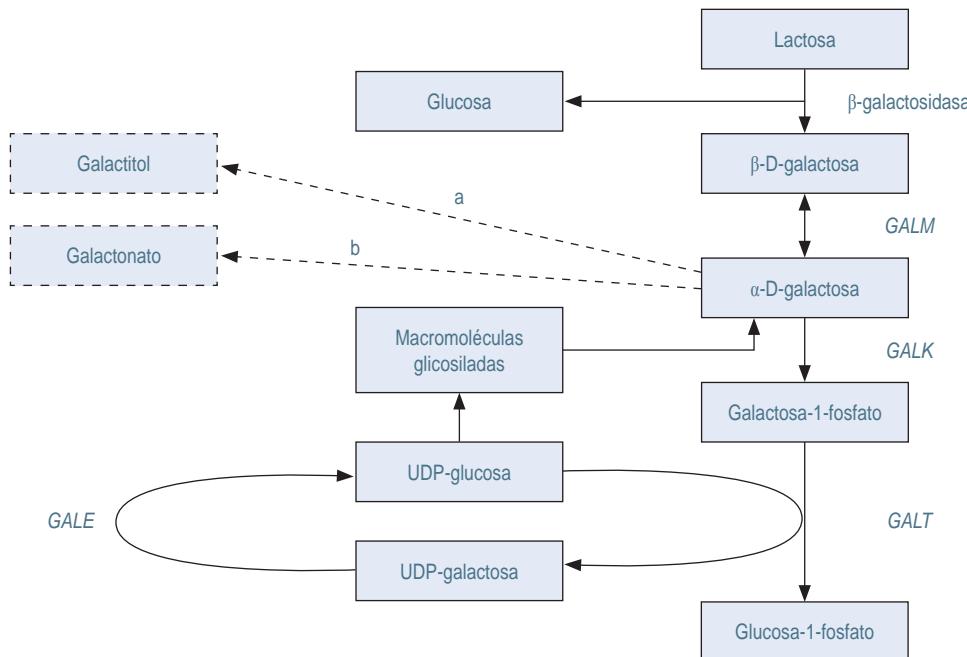


Figura 1:

Vía metabólica de la galactosa. Adaptada de: Iwasawa S et al.²
 Flechas continuas indican normalidad; discontinuas, analitos presentes al existir algún bloqueo enzimático; a: aldolasa reductasa; b: galactosa deshidrogenasa. GALM = galactosa mutarotasa; GALK = galactoquinasa 1; GALT = galactosa-1-fosfato uridiltransferasa; GALE = UDP-galactosa 4' epimerasa.

distintos, mediante la detección de la fluorescencia bajo luz ultravioleta a longitudes de onda de 254 y 365 nm dentro de una cámara oscura.

Para el análisis molecular se obtuvieron muestras de sangre venosa en tubo con EDTA para la extracción de DNA de linfocitos, en la búsqueda de *GALT*, *GALE* y *GALK* por secuenciación Sanger, mediante el ABI PRISM® 310 Genetic Analyzer-Applied Biosystems. En el caso del paciente 3 (*Tabla 1*) se realizó la búsqueda de la delección 5.5 kb de *GALT*, así como la actividad enzimática de *GALK*, pero en laboratorios externos.

En todos los casos en esta serie se elaboró la historia clínica genética completa, se dio el tratamiento dietético específico y se brindó asesoramiento genético.

RESULTADOS

Cuadro clínico

Las características clínicas de seis pacientes detectados con galactosemia se muestran en la *Tabla 1*. Cinco fueron recién nacidos (un femenino y cuatro masculinos). El sexto paciente fue un escolar masculino de siete años de edad, quien era el hermano mayor de un caso diagnosticado por tamiz neonatal.

De los seis casos, los pacientes 2, 4 y 6 estaban asintomáticos al momento de su diagnóstico, el cual fue realizado entre los días dos y nueve de vida.

Los tres pacientes fueron llevados a la consulta de genética al tener el resultado de la primera muestra de GAOS elevada. El diagnóstico se confirmó con una segunda evaluación de GAOS, por la prueba enzimática de *GALT* y con análisis de pruebas de funcionamiento hepático.

Los pacientes 1, 3 y 5 presentaron datos clínicos sospechosos de galactosemia. Los dos primeros con cuadro agudo, y el tercero con datos crónicos, respectivamente. De los pacientes con manifestaciones agudas, el paciente 1 ingresó a los dos meses de vida con falla hepática grave, con aumento de transaminasas con TGO 403 U/L (valor normal 25-75 U/L) y TGP 162 U/L (valor normal 11-54 U/L), bilirrubina total 16.9 mg/dL (valor normal 0.2-1.3 mg/dL), bilirrubina directa 11.2 mg/dL (valor normal 0-0.4 mg/dL), bilirrubina indirecta 5.7 mg/dL (valor normal 0-1.1 mg/dL), diátesis hemorrágica. Además, se detectó cataratas bilaterales e hipotiroidismo congénito.

Con respecto al paciente 3, se recibió en la consulta de genética a las tres semanas de vida con el resultado del GAOS elevada, en muestra tomada a los tres días de vida. En la exploración física se encontró hipotonía, ictericia leve e hiporreactividad, por lo que se internó en urgencias para hidratación y se indicó dieta a base de soya.

El paciente 5 se trata de un masculino de siete años, mal aprovechamiento escolar, lo cual fue el único

dato anormal. Debido a que se había detectado a su hermano con galactosemia (paciente 4), se llevó a cabo la determinación de GAOS.

Análisis molecular

El paciente 1 tuvo una variante patogénica bialélica en el gen *GALT*, la variante encontrada fue p.Gln207Ter, la cual ya había sido previamente descrita en la literatura.

En el paciente 2, heterocigoto compuesto, se encontró que una de las variantes patogénicas en *GALK1* era inédita: c.1118delG (deleción de una guanina en el exón 8), lo que condiciona cambio en el marco de lectura, y

que 65 codones después haya un codón de terminación (Gly373AlafsTer65).

En el paciente 3, luego de no encontrar variantes patogénicas en *GALT* y *GALE* mediante secuenciación, se detectó una delección en homocigosis en un sitio intrónico entre los exones 4 y 5 del gen *GALK1*, lo cual fue reportado como SNP rs35008831. Además, se realizó la cuantificación enzimática de *GALK* en plasma para revisar si esta variante influía en la actividad de la enzima; sin embargo, fue normal (valor 3.07, nmol/h/mg de hemoglobina normal [límite normal > 0.7]). Asimismo, se llevó a cabo la búsqueda de la delección de 5.5 kb en *GALT*, que fue reportada normal.

Tabla 1: Análisis clínico y bioquímico de los pacientes con galactosemia.

Paciente	1	2	3	4	5	6
Sexo	Masculino	Masculino	Masculino	Masculino	Masculino	Femenino
Edad al diagnóstico	3 semanas	9 días	3 días	2 días	7 años	2 días
Antecedentes heredofamiliares	No	No	Endogamia	Hermano afectado (P5)	Hermano afectado (P4)	No
Datos clínicos al diagnóstico	Ictericia++, sepsis, insuficiencia hepática aguda	Asintomático	Ictericia+, hipoactividad	Asintomático	Trastorno de aprendizaje	Asintomática
Galactosa total en la primera muestra (normal < 10 mg/dL)	98.8	22.0	15.6	23.7	14.4	28.5
Prueba de Beutler (actividad <i>GALT</i>)	Sin actividad	Normal	Disminución	Normal	Normal	Ligeramente disminuida
Ánalisis molecular	<i>GALT</i> : (NM_000155.4) homocigoto	<i>GALK1</i> : (NM_000154.2) heterocigoto compuesto	<i>GALK1</i> : (NM_000154.2) homocigoto	<i>GALK1</i> : (NM_000154.2) homocigoto	No tiene análisis molecular	<i>GALK1</i> : (NM_000154.2) heterocigoto compuesto
Variante(s) encontrada(s) (clasificación y tipo de variante)	p.Gln207Ter (c.619C>T) rs111033743	p.Gly373AlafsTer65 (c.1118delG)	c.611+56Trp SNP rs35008831	p.Gly386Arg (c.1156G>A)	No aplica	p.Asp385Asn (c.1153G>A) rs777202950
	Patogénica nonsense	Probablemente patogénica frameshift p.Arg256Trp (c.766C>T) rs376790302	Deleción benigna	VUS missense		VUS missense p.Gly373AlafsTer65 (c.1118delG)
		Probablemente patogénica missense (inédita)				Probablemente patogénica frameshift

GALK1 = galactoquinasa, *GALT* = galactosa-1-fosfato uridil transferasa, VUS = variante de significado incierto (*variant of unknown significance*).

En el paciente 4 se encontró una variante de significado incierto (VUS) en el gen *GALK1*, p.Gly386Arg, en homocigosis. En su hermano mayor (paciente 5) no se realizó el análisis molecular.

El paciente 6 presentó dos variantes diferentes en *GALK1*, una catalogada como de sentido erróneo y la otra con corrimiento del marco de lectura, las cuales ya habían sido descritas previamente en la literatura.

Tratamiento y seguimiento

Los seis casos recibieron terapia nutricional basada en la eliminación (paciente 1, con mutaciones en *GALT*) o restricción (los demás casos con alteraciones en *GALK1*) de galactosa en su dieta. Además se brindó suplemento de calcio y vitamina D. El paciente 3, como mostraba datos de galactosemia (hipoglucemia con la ingesta de seno materno o fórmula normal) y la GAOS se mantenía elevada (superior a 19.5 mg/dL) a pesar del cambio de alimentación, se decidió mantener la dieta libre de galactosa, con lo cual mantuvo somatometría en percentil 50 y un adecuado desarrollo psicomotor hasta los 21 meses de vida.

Todos los pacientes tuvieron valoración de crecimiento, neurodesarrollo y oftalmológico, así como asesoramiento genético a sus familias.

A la fecha, sólo el paciente 2 continúa en seguimiento en nuestra institución, con regular apego a su dieta, aparentemente sin complicaciones.

DISCUSIÓN

La galactosemia presenta heterogeneidad de locus (*GALT* en 9p13, *GALK1* en 17q22, *GALE* en 1p36 y *GALM* en 2p22). La mayoría de los casos son causados por variantes en *GALT*,¹⁴ sin embargo, en nuestra serie de casos se encontraron con mayor frecuencia variantes en *GALK1*. Además, en el paciente 2 se encontró una variante patogénica inédita en *GALK1*, c.1118delG (p.Gly373AlafsTer65), lo que resulta en una proteína más larga, de 437 aminoácidos (siendo normal de 392 aminoácidos). Esta proteína mutante es 95% similar a la proteína nativa, pero el sitio de la delección no se encuentra en una región conservada ni en un sitio de efecto catalítico, lo cual sugiere que la función de proteína se encuentra disminuida, pero faltan estudios de expresión génica o de actividad enzimática específica para corroborarlo.

En el paciente 3, después de obtener resultados normales en la secuenciación de *GALT* y *GALE*, se detectó una delección homocigota en un sitio intrónico de

GALK1, que fue reportada como una delección benigna. Sin embargo, el paciente presentaba datos clínicos de galactosemia, y en la prueba de reto con alimentación con galactosa, la GAOS total se elevaba por encima de cuatro desviaciones estándar para su edad, por lo que se considera que existe una variante en el gen *GALM* como etiología del cuadro. Recientemente, se han descrito variantes bialélicas en este gen que pueden causar galactosemia.¹⁵

El cuadro clínico agudo de galactosemia clásica (por deficiencia de *GALT*) produce disfunción hepática, cerebral y renal. Típicamente las afecciones asociadas a deficiencia en *GALK1* son menos graves en el periodo neonatal, aunque es el subtipo en el que puede presentar cataratas desde las primeras semanas y meses de vida. Se ha señalado mayor riesgo de afección ocular entre los portadores de las variantes (los padres de los casos) entre los 20-50 años, por lo que es importante señalarlo durante el asesoramiento genético. En esta serie ninguno de los padres presentó cataratas, sólo el paciente 1 presentó cataratas bilaterales.

Múltiples mecanismos se han implicado en la patogenia de la galactosemia. Se sugiere que la acumulación de metabolitos tóxicos como galactosa, galactitol y galactosa-1-fosfato (GAL1P) pueden causar el daño permanente a varios tejidos y órganos.¹⁶

La detección de galactosemia en dos de los casos presentados fue tardía, el paciente 1 se presentó por falla hepática potencialmente fatal, mientras que el paciente 5 fue diagnosticado a los siete años y ya presentaba trastorno del aprendizaje. Se ha estudiado que la glicosilación anormal de glucoproteínas y glucolípidos contribuyen a las complicaciones de la galactosemia a largo plazo.¹⁷

En particular, con relación a estos dos últimos casos, parece importante destacar el papel que tiene la aplicación del programa de tamiz neonatal ampliado en todo recién nacido y que, además, la información que aquí hemos señalado, esperamos que contribuya para que el personal médico esté alerta de las manifestaciones tempranas y tardías con el fin de pensar en la galactosemia como posibilidad diagnóstica y lograr una detección temprana. Entre más pronto su identificación, los pacientes podrán recibir el tratamiento, para disminuir su morbilidad y mortalidad.

Por último, es necesario enfatizar que los pacientes con galactosemia requieren ser caracterizados desde el punto de vista molecular, para mejorar el entendimiento de los aspectos de la genética y ofrecer un asesoramiento genético individualizado.

REFERENCIAS

1. Elsas LJ 2nd, Lai K. The molecular biology of galactosemia. *Genet Med.* 1998; 1(1): 40-48.
2. Iwasawa S, Kikuchi A, Wada Y, Arai-Ichinoi N, Sakamoto O, Tamiya G et al. The prevalence of *GALM* mutations that cause galactosemia: A database of functionally evaluated variants. *Mol Genet Metab.* 2019; 126(4): 362-367.
3. Calderon FR, Phansalkar AR, Crockett DK, Miller M, Mao R. Mutation database for the galactose-1-phosphate uridylyltransferase (*GALT*) gene. *Hum Mutat.* 2007; 28(10): 939-943.
4. Pyhtila BM, Shaw KA, Neumann SE, Fridovich-Keil JL. Newborn screening for galactosemia in the United States: looking back, looking around, and looking ahead. *JIMD Rep.* 2015;15:79-93. doi: 10.1007/8904_2014_302.
5. Coss KP, Doran PP, Owoeye C, Codd MB, Hamid N, Mayne PD et al. Classical galactosaemia in Ireland: incidence, complications and outcomes of treatment. *J Inherit Metab Dis.* 2013; 36(1): 21-27.
6. Torres-Sepúlveda MR, Martínez-de Villarreal LE, Esmer C, González-Alanís R, Ruiz-Herrera C, Sánchez-Peña A et al. Tamiz metabólico neonatal por espectrometría de masas en tandem: dos años de experiencia en Nuevo León, México. *Salud Pública Mex.* 2008; 50(3): 200-206.
7. Tyfield L, Reichardt J, Fridovich-Keil J, Croke DT, Elsas LJ 2nd, Strobl W et al. Classical galactosemia and mutations at the galactose-1-phosphate uridylyl transferase (*GALT*) gene. *Hum Mutat.* 1999; 13(6): 417-430.
8. Berry GT. Galactosemia: when is it a newborn screening emergency? *Mol Genet Metab.* 2012; 106(1): 7-11.
9. Bosch AM, Bakker HD, van Gennip AH, van Kempen JV, Wanders RJ, Wijburg FA. Clinical features of galactokinase deficiency: a review of the literature. *J Inherit Metab Dis.* 2002; 25(8): 629-634.
10. Schweitzer S, Shin Y, Jakobs C, Brodehl J. Long-term outcome in 134 patients with galactosaemia. *Eur J Pediatr.* 1993; 152(1): 36-43.
11. Wilson JMG, Jungner G. Principles and practice of screening for disease [Internet]. Public Health Papers No 34. Geneva: World Health Organization; 1968.
12. Kotb MA, Mansour L, William Shaker Basanti C, El Garf W, Ali GIZ, Mostafa El Sorogy ST et al. Pilot study of classic galactosemia: neurodevelopmental impact and other complications urge neonatal screening in Egypt. *J Adv Res.* 2018; 12: 39-45.
13. Norma Técnica 321 para la Prevención del Retraso Mental producido por Hipotiroidismo Congénito [Internet]. México: Diario Oficial de la Federación, Órgano del Gobierno Constitucional de los Estados Unidos Mexicanos, Tomo CDXX; 1988. p. 89-90. [Acceso 22 de julio de 2020] Disponible en: http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4771733&fecha=22/09/1988
14. Norma Oficial Mexicana NOM-034-SSA2-2013. Para la prevención y control de los defectos al nacimiento [Internet]. México: Diario Oficial de la Federación, Órgano del Gobierno Constitucional de los Estados Unidos Mexicanos, Tomo DCCXXIX, 24; 2014. [Acceso 22 de julio de 2020] Disponible en: https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5349816&fecha=24/06/2014
15. Timson DJ. The molecular basis of galactosemia - Past, present and future. *Gene.* 2016; 589(2): 133-141.
16. Coelho AI, Rubio-Gozalbo ME, Vicente JB, Rivera I. Sweet and sour: an update on classic galactosemia. *J Inherit Metab Dis.* 2017; 40(3): 325-342.
17. Liu Y, Xia B, Gleason TJ, Castañeda U, He M, Berry GT et al. N- and O-linked glycosylation of total plasma glycoproteins in galactosemia. *Mol Genet Metab.* 2012; 106(4): 442-454.