

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CONSEQUÊNCIAS A CURTO E A LONGO PRAZO DE ALTERAÇÕES NO METABOLISMO DA GALACTOSE

Trabalho submetido por

José Duarte Barros Santos Leite

para a Obtenção do Grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

julho de 2025

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CONSEQUÊNCIAS A CURTO E A LONGO PRAZO DE ALTERAÇÕES NO METABOLISMO DA GALACTOSE

Trabalho submetido por

José Duarte Barros Santos Leite

para a Obtenção do Grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Prof. Doutor Carlos Monteiro
e coorientado orientado por
Professora Doutora Isabel Rivera

julho de 2025

*“A Doença não tem existência em si, é apenas uma entidade
abstrata à qual o homem dá um nome.”*

Jean-Charles Sournia

*“Que tragédia não acreditar na perfeitibilidade humana!
E que tragédia acreditar nela!”*

Fernando Pessoa

À memória de Minha Avó...

AGRADECIMENTOS

Ao iniciar este pequeno texto onde procurei expressar da melhor forma os meus agradecimentos, tive imediatamente a consciência de que escrever um texto que consiga cumprir este objetivo não é uma tarefa fácil, mormente quando os nossos pensamentos acabam por se repartir por um vasto leque de pessoas e entidades dos quais fui um mero e pequeno subsidiário do enorme manancial que se conjuga neste trabalho. Não é, portanto, tarefa fácil; não pela falta de vontade para o fazer, mas e bem pelo contrário, pela pressão que essa vontade coloca no desejo de o fazer de forma a conseguir mostrar, simultaneamente, o louvor e a gratidão a todos aqueles que nos acompanharam e ajudaram nesta tarefa.

Em primeiro lugar ao meu orientador, Prof. Doutor Carlos Monteiro, desde logo pela enorme paciência e disponibilidade com que sempre me premiou desde o primeiro momento ao evoluir de todo este processo durante o qual, infelizmente, diversos problemas que lhe são de todo alheios, se concertaram num acréscimo de dificuldades da minha parte na conclusão do presente trabalho. Talvez por isso e anda mais do que tudo o meu muito sentido e reconhecido agradecimento.

À Professora Doutora Isabel Rivera, coadjuvante da presente tese, devo igualmente este duplo e especial agradecimento, não só pela amizade, simpatia, cuidado e conhecimento que me propiciou como, também e não menos importante, pela persistência que me demonstrou e que, ultrapassando aquilo que posso exprimir em palavras, apenas posso referir como marca indelével de um espírito de compreensão humana que se revelou ser superior às minhas melhores expectativas.

De uma forma muito geral e, repetindo, desejo neste preâmbulo deixar mostras da mais profunda gratidão, até pela confiança que resultou do apoio prestado e por mim sentido mesmo quando as coisas me correram menos bem.

À Instituição em geral e em particular a todo o corpo docente que me acompanhou no decurso do Curso de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas do Instituto Universitário Egas Moniz, manifesto, pública e expressamente o meu agradecimento e reconhecimento não só pelos muitos conhecimentos transmitidos como, da mesma forma, por toda a vivência e crescimento que no seu todo me proporcionou, ao longo dos anos em que tive a hora e o prazer de o frequentar.

Aos meus colegas em geral aqui aproveito para expressar, da mesma forma, o meu melhor agradecimento, pela cumplicidade e simpatia com que me acompanharam nesta jornada, particularmente àqueles mais chegados que não discriminarei porque eles sabem bem quem são.

À minha estimada tia, Dr^a Laura Leite, pela ajuda e paciência com que me foi ajudando e revendo o texto, apresentando com firmeza e determinação sugestões e críticas que muito contribuíram para o resultado do trabalho ora concluído.

Aos meus pais pela perseverança, apoio e amizade dispensada ao longo destes anos, nunca esmorecendo e deixando de me motivar e incentivar mesmo nos momentos mais difíceis.

RESUMO

A galactose é um monossacárido vital para o ser humano, com diversas funções no organismo, em particular enquanto fonte de energia primordial em lactentes e pelo papel estrutural crucial, particularmente importante no desenvolvimento inicial. A principal fonte de galactose é a lactose presente no leite e produtos lácteos. Após ingestão, a lactose é hidrolisada no lúmen intestinal pela lactase em glicose e galactose. A galactose é transportada através da membrana da borda em escova do enterócito pelo co-transportador ativo de sódio/glicose SGLT1 e, através de difusão facilitada pelo transportador de glucose GLUT2, através da membrana baso lateral do enterócito. Ao entrar na corrente sanguínea, entra no fígado através da veia porta, o principal local do metabolismo da galactose, onde é internalizado pelo GLUT5.

A galactosemia é uma doença hereditária do metabolismo que resulta de mutações nos quatro genes que codificam as enzimas envolvidas no metabolismo da galactose. Estas mutações afetam as enzimas responsáveis pela metabolização da galactose que estão presentes na via de Leloir (galactocinase, galactose-1-fosfato uridiltransferase e difosfato de uridina UDP-galactose 4-epimerase), com a consequente acumulação de galactose no sangue. A galactosemia clássica caracteriza-se pela diminuição de atividade da GALT, devido à ocorrência de uma das mais de 250 mutações no gene que a codifica, e apresenta-se inicialmente, no período neonatal, com sinais clínicos subtis e inespecíficos, como intolerância alimentar, icterícia, letargia, hipotonia, vômitos, diarreia e má evolução estatura-ponderal. Se não for diagnosticada e tratada, evolui para várias complicações com elevado risco de vida como, hepatomegalia, insuficiência hepática, diáteses hemorrágicas, disfunção renal, encefalopatia, sépsis por E coli, choque e, por fim, morte. Estudos a nível celular demonstraram que a atividade reduzida da GALT ou GALE resulta num aumento do stress oxidativo. Tendo isso em conta, após um século da descoberta da doença, é possível conceber melhores opções terapêuticas como sejam fármacos que reduzem os metabolitos potencialmente tóxicos, antioxidantes para reduzir o stress oxidativo das células ou chaperones farmacológicos para estabilizar as proteínas afetadas.

As *guidelines* de tratamento da galactosemia preconizam uma dieta restritiva em lactose e galactose, bem como o rastreio bioquímico periódico. Adicionalmente, são recomendados diversos outros rastreios, incluindo o desenvolvimento cognitivo, neurológico, oftalmológico, entre outros, uma vez que, apesar das restrições alimentares, os doentes apresentam complicações a longo prazo, como cataratas, baixo coeficiente de

inteligência e perdas de densidade óssea, que serão abordadas mais a fundo durante a realização da tese.

Palavras-Chave: Galactosemia; GALT; GALE; GALK 1; Metabolic;

ABSTRACT

Galactose is a vital monosaccharide for humans, with various functions in the body, as a primary energy source in infants and for its crucial structural role, particularly important in early development. The main source of galactose is the lactose present in milk and dairy products. After ingestion, lactose is hydrolyzed in the intestinal lumen by lactase into glucose and galactose. Galactose is transported across the brush border membrane of the enterocyte by the active sodium/glucose co-transporter SGLT1 and, through diffusion facilitated by the glucose transporter GLUT2, across the lateral basement membrane of the enterocyte. On entering the bloodstream, it enters the liver via the portal vein, the main site of galactose metabolism, where it is internalized by GLUT5.

Galactosemia is an inherited metabolic disease that results from mutations in the four genes that code for the enzymes involved in galactose metabolism. These mutations affect the enzymes responsible for metabolizing galactose that are present in the Leloir pathway (galactokinase (GALK), galactose-1-phosphate uridyl transferase (GALT) and uridine diphosphate (UDP)-galactose 4-epimerase (GALE), with the consequent accumulation of galactose in the blood. Classical galactosemia is characterized by a decrease in GALT activity, due to one of the more than 250 mutations in the gene that codes for GALT, and initially presents itself, in the neonatal period, with subtle and non-specific clinical signs, such as food intolerance, jaundice, lethargy, hypotonia, vomiting, diarrhea and failure to thrive. If left undiagnosed and untreated, it progresses to several life-threatening complications such as hepatomegaly, liver failure, bleeding diathesis, kidney dysfunction, encephalopathy, E coli sepsis, shock and ultimately death. Studies at the cellular level have shown that reduced GALT or GALE activity results in increased oxidative stress. Taking this into account, a century after the discovery of the disease, it is possible to design better therapeutic options such as drugs that reduce potentially toxic metabolites, antioxidants to reduce oxidative stress in cells or pharmacological chaperones to stabilize the affected proteins.

According to the galactosemia treatment guidelines, treatment consists of a lactose- and galactose-restricted diet and periodic biochemical screening. In addition, various screenings are recommended, including cognitive, neurological and ophthalmological development, among others, since, despite dietary restrictions, patients have long-term complications, such as cataracts, low intelligence and loss of bone density, which will be discussed in more depth during the thesis.

Key-Words: Galactosemia; GALT; GALE; GALK 1; Metabolic;

ÍNDICE GERAL

RESUMO	1
ABSTRACT	3
ÍNDICE DE FIGURAS	7
ÍNDICE DE TABELAS	9
LISTA DE ABREVIATURAS.....	11
INTRODUÇÃO.....	13
DESENVOLVIMENTO.....	17
1. METABOLISMO DA GALACTOSE.....	17
1.1 <i>Vias alternativas do metabolismo da galactose</i>	19
Via redutora	19
Via oxidativa:.....	20
Via da pirofosforilase:	20
2. GALACTOSEMIA.....	21
3. DIAGNÓSTICO DA GALACTOSEMIA	22
3.1 <i>Triagem e despiste</i>	22
3.2 <i>Confirmação</i>	23
3.3 <i>Acompanhamento bioquímico</i>	23
3.4 <i>Importância do diagnóstico precoce</i>	24
4. DIFERENÇA ENTRE INTOLERÂNCIA À LACTOSE E GALACTOSEMIA	25
5. GALACTOSEMIA TIPO 1.....	27
5.1 <i>Caracterização do gene GALT e da enzima GALT</i>	27
5.2 <i>Principais mutações e seus efeitos</i>	27
5.3 <i>Fisiopatologia e principais complicações</i>	28
6. GALACTOSEMIA TIPO 2.....	32
6.1 <i>Caracterização do gene GALK1 e da enzima GALK 1</i>	32
6.2 <i>Principais mutações e seus efeitos</i>	32
6.3 <i>Fisiopatologia e principais complicações</i>	32
7. GALACTOSEMIA TIPO 3.....	33
7.1 <i>Caracterização do Gene GALE e da Enzima GALE</i>	33
7.2 <i>Principais Mutações e seu efeito</i>	34
7.3 <i>Fisiopatologia e Principais Complicações</i>	34
8. OPÇÕES DE TRATAMENTO DA GALACTOSEMIA E PERSPETIVAS FUTURAS.....	36
8.1 <i>Terapia com moléculas pequenas</i>	37
8.2 <i>Terapia de reposição genética</i>	38
8.3 <i>Inibidores da aldose redutase</i>	40
CONCLUSÃO.....	43
BIBLIOGRAFIA	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Publicação sobre doenças metabólicas hereditárias do médico britânico Archibald Garrod (https://www.lindahall.org/about/news/scientist-of-the-day/archibald-garrod/)	14
Figura 2 - Captação da galactose, transporte, entrada no fígado e consequente entrada na via de Leloir	17
Figura 3 - Processos enzimáticos da via de Leloir (Holden et al., 2003).....	18
Figura 4 - Configurações cíclicas e lineares dos pares enantioméricos da galactose. O grupo hidróxi no carbono do hemiacetal (C1) está indicado a azul no anómero alfa (α) e a amarelo no anómero beta (β) (Conte et al., 2021).....	19
Figura 5 - Países com rastreio neonatal de galactose, assinalados a vermelho (Kotb et al., 2019).....	24
Figura 6 - Complicações associadas a galactosemia (Kotb et al. 2019).....	29
Figura 7 - Áreas potencialmente afetadas em doentes com galactosemia clássica – cognição (linguagem e problemas de fala, processamento de informação mais lento, inteligência inferior e dificuldades de aprendizagem); neurologia (tremor, ataxia, distonia e distúrbio motor); neuropsicologia e neuropsiquiatria (ansiedade, depressão e deficiências de interação social); e neuroimagem (anormalidade da substância branca, atrofia cortical ligeira e atrofia cerebelar) (Panis et al., 2024).....	30
Figura 8 - Consequências da alteração do metabolismo dos hidratos de carbono no olho (Medghalchi, A. <i>et al.</i> , 2021).....	33
Figura 9 - Variantes de <i>GALE</i> causam macrotrombocitopenia Trombocitopenia síndromica de fenótipo incerto - Sequência completa do exoma - Variantes bialélicas da vesícula biliar. Mk maturação de megacariócitos - Glicolização e externalização reduzidas de GPIIb α e integrina β 1 - Alteração da GPIIb α - Distribuição alterada da Filamina A e da actina – Deslocalização do FvW (fator de von Willebrand) na membrana do megacariócito – Formação de proplaquetas comprometida – Plaquetas hipoglicosiladas. Redução de GPIIb α , Ausência de integrina β 1 – Diminuição da secreção de grânulos alfa e densos – Aumento da apoptose (Marín-Quílez et al., 2023).	35
Figura 11 - Ilustração da terapia de reposição genética com adenovírus e mRNA. Adaptado de Balakrishnan, B., et al. (2024).....	39

Figura 12 - Representação gráfica da atuação do AT-007 na via da produção de galactitol.

Gal-1 P: Galactose-1-fosfato; GALK: Galactocinase; GALT - Galactose-1-fosfato uridiltransferase; Glu-1-P - Glicose-1-fosfato; UDP-Gal - Uridina difosfato-galactose; UDP-Glu - Uridina difosfato-glicose. 41

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Resumo de algumas diferenças entre os tipos de galactosemia (Succoio et al., 2022).....	22
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

AIM	- Autorização de introdução no mercado
AR	- Aldose redutase
ARI	Inibidor da aldose redutase
AV	Vetores de adenovírus
CHMP	Comité de Medicamentos para Uso Humano
DCC	Desidrogenase/reductase de cadeia curta
eIF2 α	Fator de iniciação eucariótico 2 α
EMA	Agência Europeia de Medicamentos
FDA	Food and Drug Administration
FSH	Hormona folículo-estimulante
Gal-1-P	Galactose-1-fosfato
GALE	Galactose 4'-epimerase
GALK1	Galactocinase 1
GALM	Galactose mutarotase
GALT	Galactose-1-fosfato uridiltransferase
GC	Galactosemia clássica
Glc-1-P	Glicose-1-fosfato
GLUT2	Glicose transporter 2
GLUT5	Glicose transporter 5
HAM	Hormona anti-Mulleriana
IPO	Insuficiência primária do ovário
LCR	Líquido cefalorraquidiano
LNP	Nanopartículas lipídicas
LPH	Lactase phlorizin hydrolase
NAD ⁺	Nicotinamida adenina dinucleótido
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
PMM2-CDG	Deficiência de fosfomanomutase 2
RE	Retículo endoplasmático;
SGLT1	Sodium-glucose linked transporter 1
SIDA	Síndrome de imunodeficiência adquirida
SORD	Deficiência de sorbitol desidrogenase
THS	Terapêutica Hormonal de Substituição
UDP-Gal	Uridina difosfato-galactose

UDP-Glc Uridina difosfato-glicose

UDP Uridina difosfato

UTP Uridina trifosfato

INTRODUÇÃO

As doenças metabólicas têm a sua origem em alterações surgidas a nível do metabolismo, conceito criado por Theodor Schwann¹ na sua obra *Investigações Microscópicas Acerca da Estrutura e Crescimento dos Animais e das Plantas*, de 1839, na qual procurou introduzir a ideia de serem as células as estruturas fundamentais da vida através de mudanças ocorridas no seu interior, recorrendo à palavra grega *metábole* cujo significado é troca ou mudança.

O desenvolvimento deste estudo, contudo, mais do que a uma individualidade, é fruto de numerosas contribuições para a evolução contínua do conhecimento médico. Muitas das condicionantes associadas a estas doenças já aparecem em descrições e conhecimentos que remontam à antiguidade histórica da medicina; porém, serão os avanços da biologia molecular, bioquímica e genética que permitirão um maior desenvolvimento e uma investigação mais detalhada das bases moleculares dessas patologias (Prestes, 1997).

Archibald Garrod², médico britânico do final do século XIX e início do século XX, é frequentemente reconhecido pelas suas contribuições decisivas e pioneiras para o entendimento das doenças metabólicas hereditárias com a publicação *Inborn Errors of Metabolism* (figura 1), sendo o primeiro a propor a teoria de que algumas doenças, como a alcaptonúria (doença que afeta o metabolismo da fenilamina e da tirosina de caráter autossómico recessivo), seriam causadas por erros inatos no metabolismo, lançando as bases para a moderna compreensão das doenças genéticas (Piro et al., 2010; Cotias et al., 2006).

Desde então, as inúmeras descobertas científicas feitas foram revelando uma ampla gama de doenças metabólicas com bases genéticas diversas e originando uma enorme variedade de técnicas diagnósticas e terapêuticas.

Alterações moleculares ao nível das reações químicas que ocorrem no nosso organismo podem inibir a produção de produtos essenciais ou, pelo contrário, potenciar a acumulação de outros que se podem revelar tóxicos.

¹ Médico e fisiologista alemão (Neuss, 7 de dezembro de 1810 — Colónia, 11 de janeiro de 1882).

² Archibald Edward Garrod (Londres 1857 – Londres 1936).

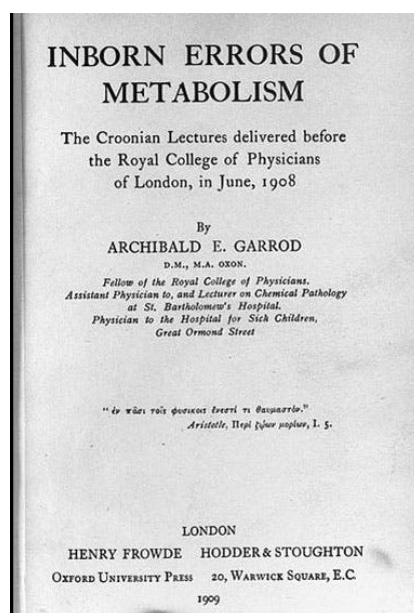


Figura 1 – Publicação sobre doenças metabólicas hereditárias do médico britânico Archibald Garrod (<https://www.lindahall.org/about/news/scientist-of-the-day/archibald-garrod/>)

No que diz respeito à progressão das doenças metabólicas e o seu tratamento associado, estas podem, nos casos mais simples, resolver-se ou minimizar-se com uma alimentação e um estilo de vida saudável. Nos casos mais graves, só com um diagnóstico precoce e, conseqüentemente, um começo do tratamento rápido é possível fazer a diferença no *outcome* da doença, para evitar a evolução que se pode traduzir em ocorrências que vão desde atrasos de desenvolvimento até mesmo à morte.

A galactose foi isolada pela primeira vez na década de 1850 por L. Pasteur a partir do leite. A caracterização da sua configuração estrutural só foi conseguida 30 anos mais tarde por E. Fischer e R. Morrell. A própria etimologia do nome “galactose” sublinha a profunda relação entre este hidrato de carbono e o leite. Em 1860, Berthelot designou este açúcar por “glucose láctica” ou galactose (da palavra grega *galaktos*, que significa leite, seguida do sufixo químico dos açúcares, “-ose”).

De facto, apesar de a galactose estar naturalmente presente na nossa dieta diária, por existir numa variedade de alimentos, tais como cereais, frutas, vegetais e mel, a maior quantidade de galactose na dieta humana é fornecida pelo consumo de leite e produtos lácteos. No leite, a galactose é um dos constituintes da lactose, um dissacárido formado por uma ligação glicosídica β -1→4 entre uma molécula da galactose e uma molécula de glucose.

Esta ligação glicosídica pode ser hidrolisada pela enzima lactase, que é uma β -D-galactosidase, presente na superfície apical das microvilosidades intestinais. A lactase medeia a absorção da lactose, hidrolisando-a em glucose e galactose, monossacáridos que são absorvidos através da membrana dos enterócitos (Conte *et al.*, 2021).

DESENVOLVIMENTO

1. METABOLISMO DA GALACTOSE

A galactose é um monossacárido essencial para o ser humano uma vez que desempenha várias funções importantes, incluindo fornecer energia vital em lactentes, bem como desempenhar funções estruturais e essenciais, particularmente importantes para o desenvolvimento inicial do recém-nascido (Coelho *et al.*, 2015).

A principal fonte de galactose é a lactose presente no leite e nos produtos lácteos. Após ingestão, a lactose é hidrolisada no lúmen intestinal pela lactase numa molécula de glicose e noutra de galactose, conforme referido anteriormente.

A galactose é transportada (como representado na figura 2 onde representa-se o caminho que a galactose faz desde a sua absorção até a sua metabolização), depois, através das microvilosidades intestinais do enterócito pelo co-transportador ativo sódio/glicose SGLT1 (Sodium-glucose linked transporter) e por difusão facilitada pelo transportador GLUT2 (Glucose transporter 2) através da membrana baso-lateral do enterócito. Uma vez na corrente sanguínea, entra no fígado através da veia porta, o principal local do metabolismo da galactose, onde é internalizado pelo GLUT5 seguindo o modelo de farmacocinética Michaelis–Menten (Fontes *et al.*, 2008).



Figura 2 - Captação da galactose, transporte, entrada no fígado e consequente entrada na via de Leloir

Depois de ser separada da glicose através dos hepatócitos, a galactose está na sua configuração beta. Seguidamente, dentro dos hepatócitos a β -D-galactose é epimerizada para a sua configuração alfa pela galactose mutarotase (GALM, EC 5.1.3.3) (Timson and Reece, 2003), para que possa entrar na via glicolítica pela via de Leloir.

Esta é a via (ilustrada pela figura 3) que converte α -D-galactose em glicose-1-fosfato (Glc-1-P) pela ação de três enzimas consecutivas:

- 1) Galactocinase (GALK1) que converte α -D-galactose em galactose-1-fosfato (Gal-1-P);
- 2) Galactose-1-fosfato uridiltransferase (GALT) que converte a Gal-1-P e a uridina difosfato-glicose (UDP-Glc) em glicose-1-fosfato (Glc-1-P) e uridina difosfato-galactose (UDP-Gal);
- 3) UDP-galactose 4'-epimerase (GALE) que é responsável pela interconversão de UDP-Gal em UDP-Glc, bem como de UDP-N-acetilgalactosamina em UDP-N-acetilglicosamina em mamíferos.

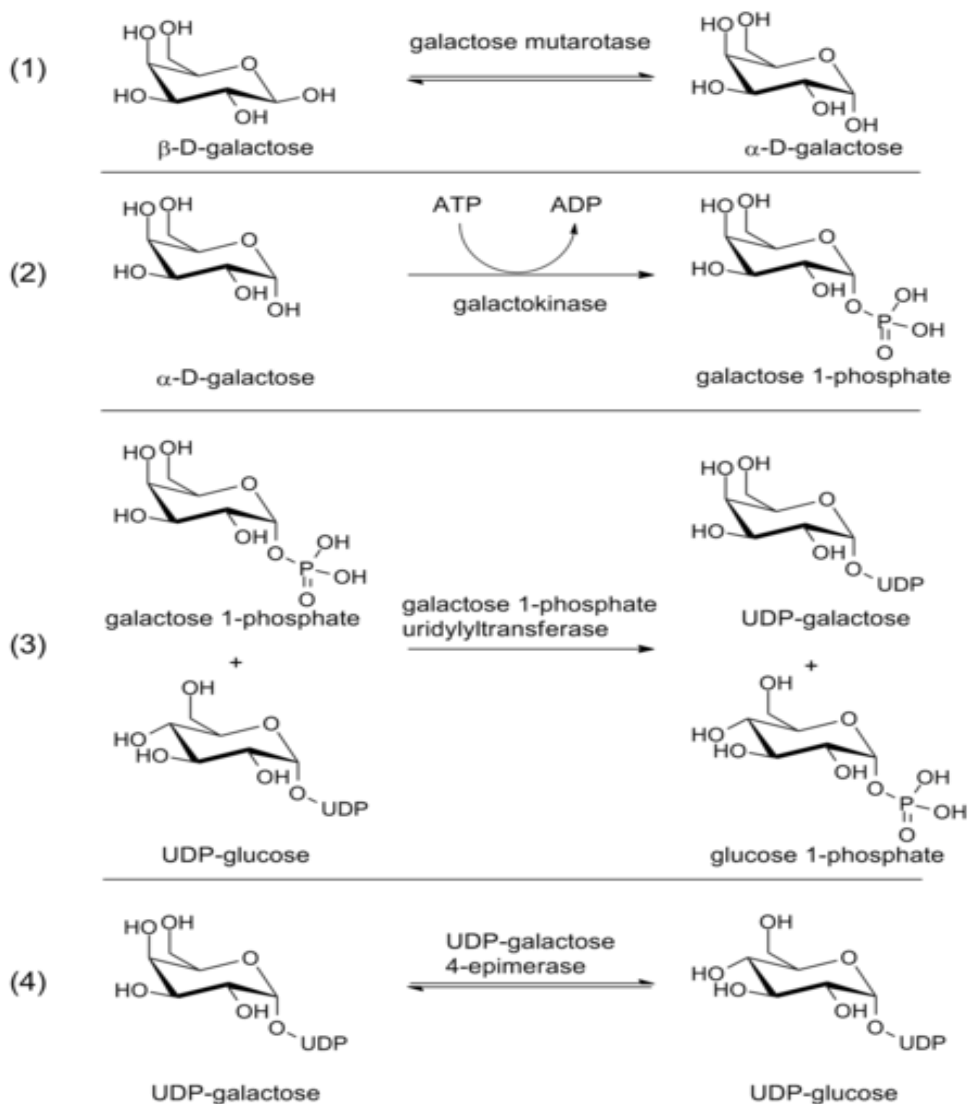


Figura 3 – Processos enzimáticos da via de Leloir (Holden et al., 2003)

A Glc-1-P produzida pela via de Leloir é convertida através da fosfoglucomutase em Glc-5-P, sendo posteriormente metabolizada através da via glicolítica, da via das pentoses fosfato- A UDP-Gal, por sua vez, é o dador de galactose para a reação de glicosilação (UDP-Gal para UDP-Glc) (Coelho *et al.*, 2015).

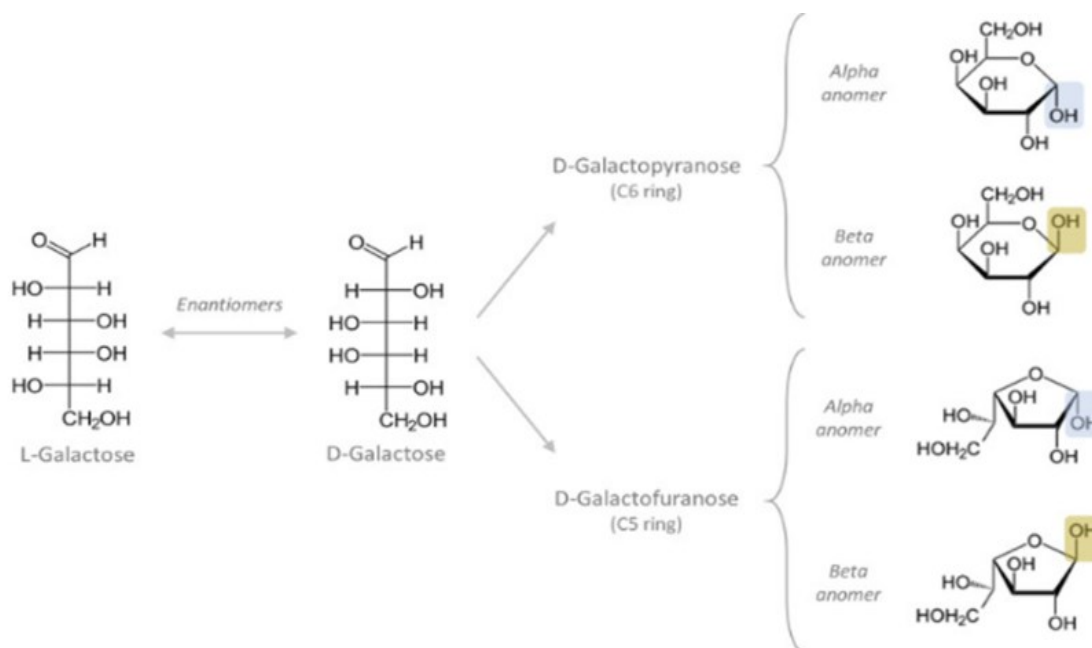


Figura 4 - Configurações cíclicas e lineares dos pares enantioméricos da galactose. O grupo hidroxila no carbono do hemiacetal (C1) está indicado a azul no anomero alfa (α) e a amarelo no anomero beta (β) (Conte *et al.*, 2021).

1.1 Vias alternativas do metabolismo da galactose

Além da via de Leloir, irão ser abordadas três vias alternativas no metabolismo da galactose: a via redutora, a via oxidativa e a via da pirofosforilase.

Via redutora

A redução da galactose ocorre pela via do polioliol, que consiste em duas reações enzimáticas envolvendo a aldose redutase dependente de NADPH (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato) e a sorbitol desidrogenase dependente de NAD^+ (nicotinamida adenina dinucleótido). A aldose redutase tem uma elevada afinidade para monossacáridos

e pode metabolizar glicose e galactose, produzindo sorbitol e galactitol, respetivamente (Santos *et al.*, 1984).

O sorbitol pode ser posteriormente convertido em frutose pela sorbitol desidrogenase, enquanto o galactitol não sofre posterior metabolização, acumulando-se nas células e nos tecidos.

A acumulação de galactitol nos olhos irá produzir um efeito hiperosmótico, afetando sobretudo o cristalino, levando ao inchaço das células do cristalino. Além disso, a produção de galactitol esgota o NADPH da célula, diminuindo a atividade da glutathione redutase e, conseqüentemente, a acumulação de radicais livres, gerando stress oxidativo que induz morte celular e a formação de cataratas em doentes recém-nascidos (Pintor, 2012). Quantidades elevadas de galactitol foram também encontradas no cérebro de crianças galactosémicas, onde vai causar pseudotumor cerebral (Berry *et al.*, 2001).

Via oxidativa:

A galactose também pode ser oxidada a galactonato, embora a respetiva via ainda seja controversa. Acredita-se que resulte de uma galactose desidrogenase dependente de NAD⁺ (D-galactose:NAD⁺ oxidoreductase, EC 1.1.1.48) produzindo galactonolactona, que é espontânea ou enzimaticamente convertida em galactonato (Berry *et al.*, 1997).

O galactonato pode ser excretado diretamente nesta forma ou posteriormente convertido através da via das pentoses fosfato em β -ceto-D-galactonato, que subsequentemente sofre descarboxilação, perdendo o carbono C1 que é utilizado para criar CO₂ para formar xilulose que é o último passo nesta via metabólica (Coelho *et al.*, 2015; Wehrli *et al.*, 1997).

Via da pirofosforilase:

As vias redutora e oxidativa não envolvem as enzimas da via de Leloir. A via da pirofosforilase, no entanto, depende de GALK1 e GALE, uma vez que envolve a fosforilação da galactose catalisada pela GALK1 em Gal-1-P seguida pela incorporação da galactose em UDP-Gal catalisada pela glicose/galactose pirofosforilase UTP dependente (UGP, EC 2.7.7.10). A UDP-Gal é então epimerizada pela GALE em UDP-Glc, a partir da qual uma segunda reação catalisada pela pirofosforilase gera Glc-1-P e UTP. Esta via tem sido sugerida como responsável pela produção endógena de galactose (Gitzelmann, 1969).

A principal fonte de galactose endógena é a hidrólise lisossómica de glicoproteínas, glicolípidos e proteoglicanos contendo galactose. Vários estudos forneceram evidências

quantitativas de que a síntese de galactose endógena em indivíduos saudáveis e galactosémicos, é correspondentemente estimada entre 0,48 e 1,71 mg/kg/h; no entanto, esta não é influenciada pela galactose exógena (alimentar) (Schadewaldt *et al.*, 2014).

Notavelmente, a hidrólise lisossómica é consideravelmente maior em bebés e crianças, diminuindo gradualmente até à idade adulta (Berry *et al.*, 2004).

2. GALACTOSEMIA

Por galactosemia entende-se a elevação dos níveis de galactose plasmática, provocada pelo bloqueio de qualquer passo do metabolismo deste monossacárido e resultante da deficiência de atividade da enzima respetiva.

A deficiência de GALT (galactosemia tipo 1) pode ser estratificada em três categorias (Cerone & Rios, 2019):

- 1) Galactosemia clássica, onde a atividade da enzima está ausente ou com atividade muito baixa ($\leq 1\%$ de atividade enzimática) nos eritrócitos e tecido hepático;
- 2) Galactosemia variante clínica, que normalmente apresenta atividade da enzima de 1% a 10%. Esta variante difere da galactosemia clássica pela presença de níveis elevados de enzima noutros órgãos, principalmente o cérebro, fígado e intestinos;
- 3) Variante bioquímica, conhecida como galactosemia de Duarte, que se distingue por reter 15% a 35% da atividade da enzima. Nesta situação, o doente é heterozigótico composto para o alelo de Duarte e para a galactosemia clássica.

A deficiência de GALK (galactosemia tipo 2) resulta na formação de metabolitos de galactose produzidos por vias alternativas do metabolismo da galactose com acumulação tóxica de galactitol e galactonato. O galactitol afeta os olhos e o cérebro, o primeiro levando à formação de cataratas e, menos frequentemente, o segundo a que ocorra pseudotumor cerebral (Cerone & Rios, 2019).

A deficiência de GALE (galactosemia tipo 3) varia clinicamente desde ligeira a grave, dependendo não apenas da atividade da enzima, mas também se a deficiência está localizada apenas nos eritrócitos ou afeta mais generalizadamente outros tecidos e órgãos. A deficiência grave de GALE assemelha-se à galactosemia clássica, apresentando os

doentes as mesmas manifestações clínicas no período neonatal, exceto a insuficiência ovárica que aparece mais tarde durante a puberdade (Cerone & Rios, 2019).

As consequências associadas aos doentes com galactosemia são algo grave que afeta a vida dos doentes em muitos aspetos a comparar com adultos que não sofram de galactosemia como é evidente no estudo de Garrett *et al.*, 2024, cujos resultados apontam para que os adultos com GC apresentem uma prevalência significativamente mais elevada de complicações do que os adultos sem GC na fala, voz, linguagem, função cognitiva, função motora, bem-estar psicossocial e saúde óssea (Garrett *et al.*, 2024).

Os diferentes tipos de galactosemia apresentam características que se resumem na tabela abaixo e se descrevem detalhadamente nos pontos seguintes.

Tabela 1 - Resumo de algumas diferenças entre os tipos de galactosemia (Succoio et al., 2022).

Tipo	1	2	3
OMIM	230400	230200	230350
locus	9P13	17q24	1p36-p35
GENE	GALT	GALK 1	GALE
Enzima	GALACTOSE-1-FOSFATO	Galactokinase 1	UDP GALACTOSE EPIMERASE
Incidência	1/60000 nados	1/100000 nados	Muito raro sem dados
diagnostico inicial	↑galactose ↓GALT	↑Galactose GALT-normal	↑Galactose GALT-normal

3. DIAGNÓSTICO DA GALACTOSEMIA

A metodologia do diagnóstico da galactosemia envolve passos que vão desde a triagem neonatal até aos testes de confirmação da atividade enzimática, análise genética e bioquímica. Estes métodos de deteção são essenciais para que ocorra uma deteção precoce e uma gestão eficaz da galactosemia, prevenindo o aparecimento de complicações graves, potencialmente fatais, e melhorando o prognóstico dos doentes afetados (Berry, 2021).

3.1 Triagem e despiste

A realização do rastreio neonatal da galactosemia torna possível identificar e tratar os doentes muito mais cedo do que no passado. Muitos países registam os casos de

galactosemia em bases de dados, permitindo ter um olhar mais concreto acerca da prevalência da doença.

Na Irlanda, onde a incidência de galactosemia é a mais alta (com cerca de 1:16.476 nascimentos, o rastreio de recém-nascidos é efetuado desde 1972)³ (Coss *et al.*, 2012). Por outro lado, na Suécia, a galactosemia é uma doença pouco prevalente apesar de o programa de rastreio dos recém-nascidos também incluir o despiste desta doença (Kotb *et al.*, 2019).

A triagem da galactosemia é efetuada colhendo uma amostra de sangue capilar, nas primeiras 72 horas de vida do recém-nascido, e medindo os níveis de galactose e os níveis de galactose-1-fosfato uridiltransferase (GALT) (Pasquali *et al.*, 2018).

3.2 Confirmação

Nos casos em que, na triagem, são detetados casos positivos (níveis elevados de galactose), efetua-se a determinação dos níveis da GALT.

Se estes níveis forem baixos (GALT <24,5 nmol/h/mg de hemoglobina), segue-se uma análise genética total ao gene *GALT*, suspeitando-se de galactosemia tipo 1.

Se os níveis da GALT forem elevados (GALT ≥24,5 nmol/h/mg de hemoglobina) exclui-se o diagnóstico de galactosemia tipo 1, sendo necessário realizar testes genéticos direcionados aos outros tipos de galactosemias.

3.3 Acompanhamento bioquímico

Sendo identificado o tipo e a variante de galactosemia, é essencial a determinação dos níveis de galactose no sangue, sendo recomendado que, no primeiro ano de vida, se faça esta medição no dia do diagnóstico, aos 3 meses e aos 9 meses após o começo da restrição de galactose na dieta, para que se consiga ver se as restrições alimentares estão a ser eficazes ou se há necessidade de adaptação da dieta.

³ Note-se que, na Irlanda, a população em que esta situação se verifica é na população especial *traveller*, na população não *traveller* a incidência é muito menor.

apresentam graves complicações principalmente ao nível do sistema nervoso central, neurológico e musculoesquelético. Estes doentes são também muito dependentes de terceiros no seu dia a dia.

A ausência de rastreio neonatal da GC em Portugal e Bélgica, bem como o início do rastreio apenas em 2007 nos Países Baixos apenas posterior ao nascimento do doente, vem, mais uma vez, reforçar a importância de um diagnóstico precoce para que a introdução da dieta comece o mais atempadamente possível, pois esta é fundamental para um prognóstico favorável (Quelhas *et al.*, 2024).

4. DIFERENÇA ENTRE INTOLERÂNCIA À LACTOSE E GALACTOSEMIA

A galactosemia e a intolerância à lactose são doenças diferentes, embora ambas envolvam alterações na metabolização dos açúcares presentes no leite e noutros alimentos. A intolerância à lactose é uma doença muito mais comum e ocorre quando o corpo tem dificuldade em digerir a lactose. Esta intolerância é causada pela deficiência ou ausência da atividade da enzima β -galactosidase (lactase), a qual é necessária para hidrolisar a lactose em glicose e galactose. Em consequência, a lactose acumula-se no intestino grosso, a qual é fermentada pelas bactérias presentes na flora intestinal, aumentando a sua proliferação, o que causa libertação de gases (como o hidrogénio, dióxido de carbono e oxigénio) e chamada de água ao intestino, causando os sintomas associados a intolerância da lactose (dor abdominal, diarreia e flatulência) (Romero-Velarde *et al.*, 2019).

O diagnóstico da intolerância à lactose é efetuado através da medição dos gases produzidos, nomeadamente do hidrogénio, através da realização do teste respiratório do hidrogénio: este teste mede o teor de hidrogénio no ar expirado após a ingestão de lactose. O teste é positivo para a má absorção de lactose se o valor de hidrogénio no ar expirado após a ingestão de lactose aumentar >20 ppm em comparação com o valor normal do doente (Misselwitz *et al.*, 2013).

Os sintomas da intolerância à lactose surgem após a ingestão de alimentos que contenham lactose e incluem distensão abdominal, eructação, flatulência, aerofagia e meteorismo. Os sintomas variam de pessoa para pessoa, dependendo da quantidade de lactase que ainda produzem.

O tratamento geralmente envolve a redução da ingestão de lactose na dieta, podendo algumas pessoas tolerar pequenas quantidades de lactose, enquanto outras precisam evitá-

la completamente. Poderá ser necessário ponderar a suplementação com vitamina D e cálcio nos doentes que não consumam leite e seus derivados em quantidades suficientes. Há também suplementos de lactase que podem ajudar a que a pessoa possa consumir, ainda que com precaução, alimentos que contenham lactose.

Existem quatro tipos de intolerância à lactose:

- 1) Intolerância à lactose no desenvolvimento ou intolerância neonatal;
- 2) Intolerância congénita à lactose;
- 3) Intolerância a lactose primária;
- 4) Intolerância a lactose secundária.

A intolerância à lactose no desenvolvimento ou intolerância neonatal é observada em bebés prematuros, uma vez que os enterócitos que expressam a lactase no intestino delgado só se começam a desenvolver com uma idade gestacional de, pelo menos, 34 semanas (Darma *et al.*, 2024).

A intolerância congénita à lactose ou deficiência congénita de lactase deve-se a um defeito ou mutação no gene responsável pela síntese da lactase, ou seja, o gene da lactase-phlorizin hidrólase (lph) localizado no cromossoma humano 2q21.3. A doença manifesta-se por diarreia grave e intratável durante o período neonatal após a ingestão de lactose. Trata-se de uma doença hereditária (provavelmente autossómica recessiva) muito rara e que pode ser fatal devido ao risco de desidratação e perda de eletrólitos. Desconhece-se se os portadores heterozigóticos do gene LPH são sintomáticos ou se podem desenvolver espontaneamente a doença (Darma *et al.*, 2024).

A intolerância primária à lactose é determinada geneticamente. A distribuição geográfica e a idade em que a expressão da lactase começa a diminuir diferem consoante a etnia, refletindo um fator subjacente de ascendência genética. A atividade da lactase diminui fisiologicamente após 1 ano de idade, presumivelmente devido a uma menor necessidade de produtos lácteos como fonte de energia. No entanto, entre os indivíduos com intolerância primária à lactose, a expressão intestinal da lactase diminui acentuadamente desde o seu pico ao nascimento até menos de 10% do nível infantil pré-desmame durante a infância. A intolerância primária à lactose é, de facto, o tipo mais comum e é referida como hipolactasia primária adulta e deficiência primária de lactase (Darma *et al.*, 2024).

A intolerância secundária à lactose é geralmente transitória (é reversível uma vez que o revestimento epitelial seja reparado) e pode ocorrer em qualquer idade, embora seja

mais comum durante a infância. A intolerância secundária à lactose pode ocorrer após gastroenterite aguda devida a infecções que afetem o intestino delgado proximal, alergias alimentares, doença celíaca, doença de Crohn, Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA), bem como outras enteropatias relacionadas com o sistema imunitário ou enterite causada pela radiação ou quimioterapia. De notar que os bebés muito subnutridos podem desenvolver atrofia do intestino delgado que leva também a uma deficiência secundária de lactase (Darma *et al.*, 2024).

Em resumo, a principal diferença entre as duas doenças é a sua gravidade e a sua origem. Desta forma, a galactosemia é uma doença muito mais rara, grave e potencialmente fatal se não tratada, enquanto a intolerância à lactose pode ser bastante desagradável, mas só tem consequências extremas em certos tipos de intolerância e em doentes não diagnosticados e/ou não tratados.

5. GALACTOSEMIA TIPO 1

5.1 Caracterização do gene *GALT* e da enzima GALT

O gene que codifica a enzima GALT (OMIM 606999) localiza-se no cromossoma 9p13.3 (chr9:34,638,133-34,651,035) e está organizado em 11 exões, tendo como massa molecular 4,0 kb de DNA genómico (Reichardt and Berg, 1988).

A enzima Galactose-1-Fosfato Uridiltransferase (GALT) encontra-se ativamente maioritariamente no fígado, no citoplasma dos hepatócitos, sendo essencial para que ocorra a via de Leloir (*GALT Galactose-1-phosphate Uridyltransferase [Homo Sapiens (Human)] - Gene - NCBI*, n.d.). Esta enzima é uma metaloenzima, composta por um dímero sendo o local ativo formado por 379 aminoácidos das duas subunidades, encontrando-se também uma molécula de zinco ligada aos resíduos E202, H301, H319, H321 (Geeganage and Frey, 1999).

5.2 Principais mutações e seus efeitos

Até a data estão documentadas 717 mutações no *locus GALT* em que 209 destas são caracterizadas como patogénicas e 143 potencialmente patogénicas. Na variante clássica, a atividade da enzima é inferior a 1%, na variante Duarte o indivíduo tem uma atividade de cerca de 25% (Succoio *et al.*, 2022).

Atualmente, o alelo p.Asn314 Asp 4 A apresenta uma frequência de aproximadamente 11% nas populações europeias e uma frequência mais baixa em populações pan-étnicas, ficando-se neste caso pelos 8,3% (J. K. Reichardt and Woo, 1991).

Curiosamente, um estudo sobre a origem e distribuição do alelo Duarte sugeriu que o alelo p.Asp314 é de facto ancestral e que o p.Asn314 só surgiu no início da evolução humana, quando os humanos migraram para fora de África (Elsas *et al.*, 1994).

5.3 Fisiopatologia e principais complicações

A galactosemia tipo 1 é caracterizada pela deficiência de uma das enzimas da via de Leloir levando a várias complicações a curto, médio ou longo prazo. Começando pelo curto prazo, se não for diagnosticada a tempo, pode levar à morte do recém-nascido num prazo de dias.

Os sintomas começam com a perda de apetite, perda de peso, vômitos, diarreia, danos hepatocelulares, letargia e hipotonia, culminando na síndrome neonatal aguda, que pode desencadear sépsis causada por bactérias gram-negativas, cataratas e um pseudo-tumor que causa uma protuberância na região da fontanela (Kaufman *et al.*, 1995; Kaufman *et al.*, 1981; Panis *et al.*, 2006).

A médio e longo prazo, é necessária uma dieta rigorosa, excluindo todos os produtos lácteos, embora alguns estudos indiquem que o consumo de queijos maturados não apresenta problemas (Van Calcar *et al.*, 2014).

O grande desafio reside nas vias endógenas de produção de galactose, o que leva aos doentes que sofrem de galactosemia a desenvolverem atrasos mentais, com QI normalmente abaixo de 85, distúrbios motores, incluindo tremores e ataxia grave, bem como problemas de memória, fala e linguagem. Estes últimos afetam entre 38% a 88% dos indivíduos e podem ser explicados pela alteração das conexões neuronais e dos padrões de conexão (Hughes *et al.*, 2009).

Normalmente, estes indivíduos apresentam atrofia cerebral e cerebelar, incluindo na matéria branca, e estudos indicam que apresentam uma dispersão neuronal elevada e menos neurónios do que indivíduos normais (Timmers *et al.*, 2014).

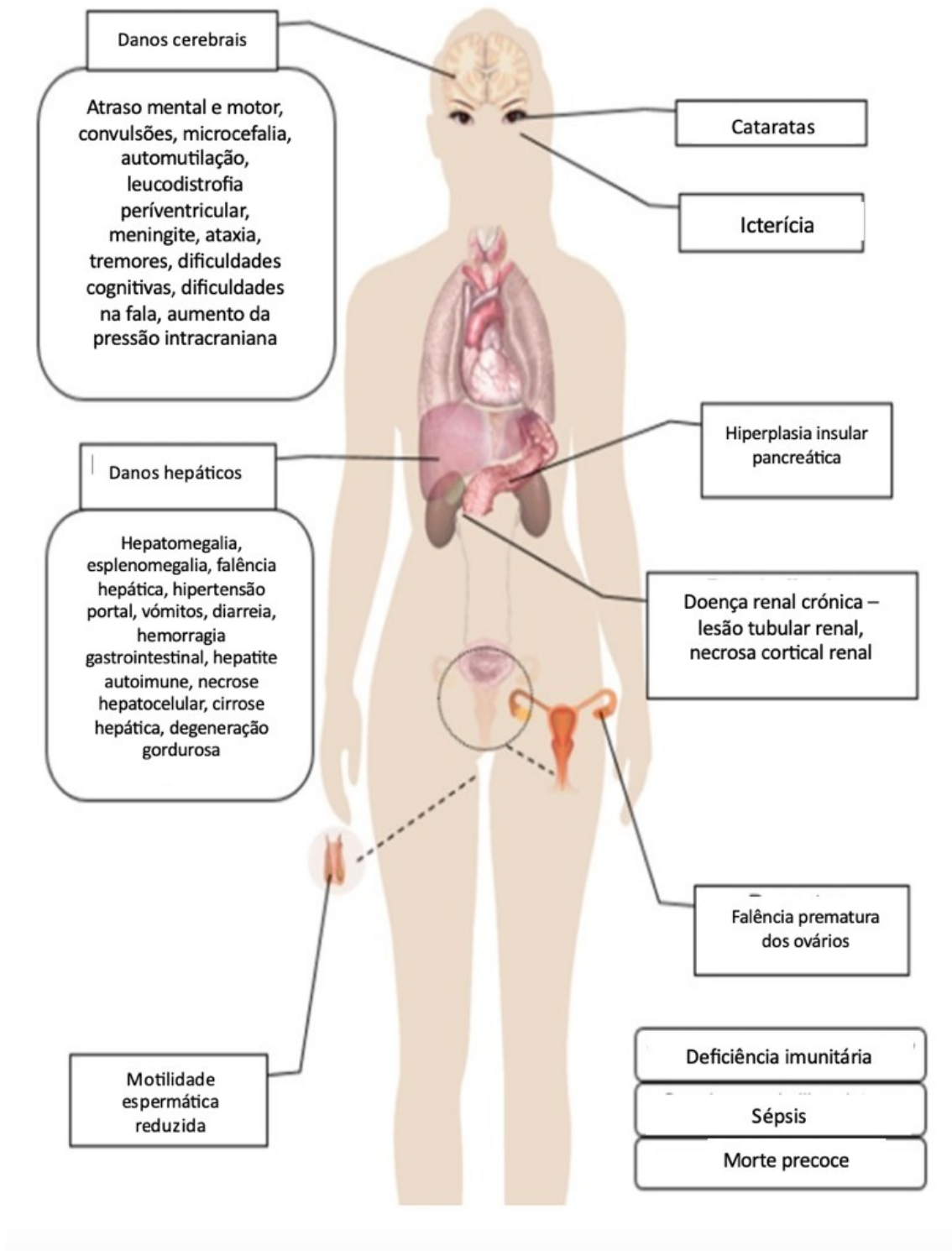


Figura 6 – Complicações associadas a galactosemia (Kotb et al. 2019).

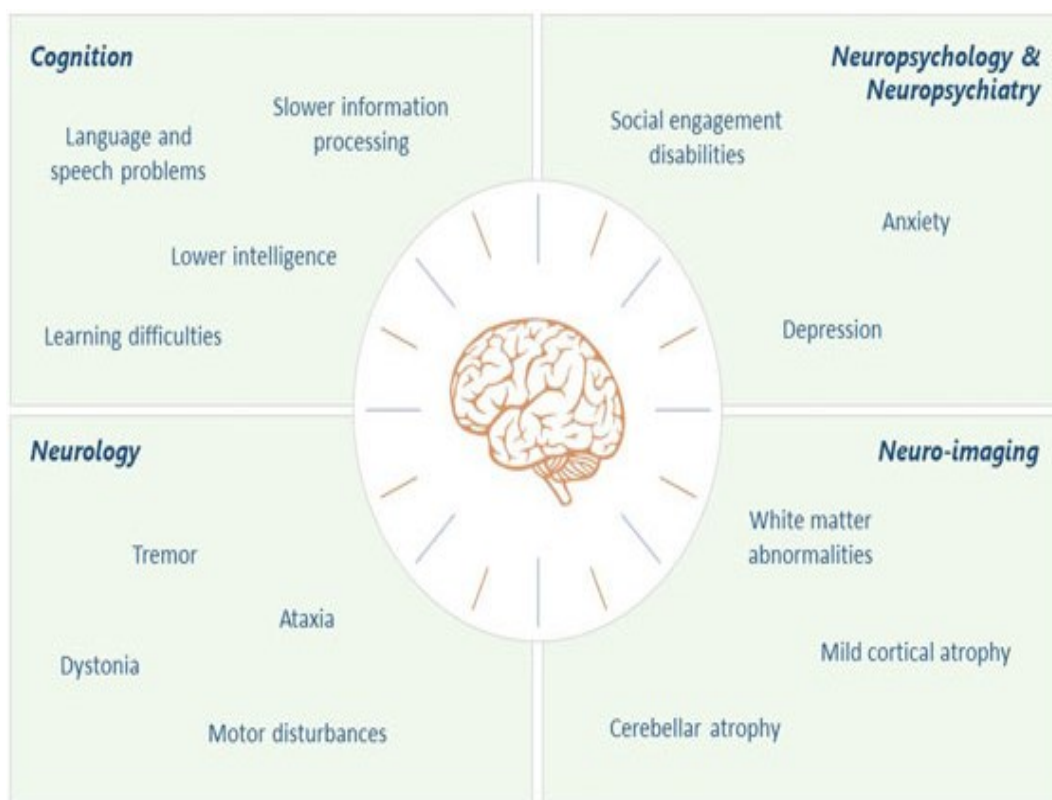


Figura 7 – Áreas potencialmente afetadas em doentes com galactosemia clássica – **cognição** (linguagem e problemas de fala, processamento de informação mais lento, inteligência inferior e dificuldades de aprendizagem); **neurologia** (tremor, ataxia, distonia e distúrbio motor); **neuropsicologia e neuropsiquiatria** (ansiedade, depressão e deficiências de interação social); e **neuroimagem** (anormalidade da substância branca, atrofia cortical ligeira e atrofia cerebelar) (Panis et al., 2024).

Cerca de 80–90% das mulheres com galactosemia clássica sofrem de insuficiência primária do ovário (IPO). A IPO é definida como a perda da função ovárica com a aparição de menopausa antes dos 40 anos.

O início precoce de IPO na galactosemia clássica é particularmente grave para as mulheres afetadas sendo caracterizada por uma perda acelerada da reserva folicular, níveis hormonais anormais com baixa de hormona anti-Mulleriana (HAM), elevação de hormona folículo-estimulante (FSH), e níveis baixos de estradiol (Rubio-Gozalbo *et al.*, 2009).

As mulheres nascem com folículos primordiais, compostos por ovócitos cercados por milhares de células somáticas. O número de folículos primordiais em qualquer momento é considerado como a reserva ovárica. A diminuição dessa reserva ocorre devido à foliculogénese, que é o crescimento e desenvolvimento dos folículos primordiais até à sua fase terminal, a ovulação (Rubio-Gozalbo *et al.*, 2009).

A maioria dos folículos não chega à ovulação e perecerá através do processo designado por atresia. Assim, a quiescência dos folículos primordiais e as taxas de perda de folículos para a atresia são essenciais para determinar a duração da função ovariana durante a vida de uma mulher. Várias vias de sinalização celular que respondem a danos oxidativos, *foldings* de proteínas e quebras no DNA, são conhecidas por estarem envolvidas na foliculogênese, e interrupções nessas vias de sinalização podem levar à depleção acelerada de folículos primordiais e IPO (Fridovich-Keil *et al.*, 2010).

O padrão de perda de folículos devido à IPO grave associada à galactosemia clássica, ainda não se encontra completamente definido. Em mulheres com galactosemia clássica há evidências de ovários e folículos de aspeto normal ao nascimento e no decorrer da infância. Contudo, na adolescência, verificam-se evidências de rápida depleção de folículos primordiais e a ocorrência de um número reduzido de folículos em desenvolvimento. Apesar desta constatação, no que respeita ao momento preciso e à identificação dos mecanismos que determinam a perda de folículos imaturos permanecem desconhecidos. Uma característica do metabolismo celular aberrante na galactosemia clássica é a produção de metabolitos celulares deletérios que podem comprometer a sobrevivência celular.

A perda de folículos é o fenómeno conhecido como tem sido associado aos danos causados por substâncias tóxicas (por exemplo medicamentos usados na quimioterapia). No caso os folículos, têm o seu crescimento acelerado, que é então seguido por altos níveis de atresia folicular. Colocou-se, assim, a possibilidade da galactosemia clássica poder induzir um resultado semelhante (Hagen-Lillevik *et al.*, 2022).

A Terapêutica Hormonal de Substituição (THS) deve ser instituída para evitar as consequências do hipoestrogenismo associado a IPO como, por exemplo, o compromisso cardiovascular, a insuficiência suprarrenal, o aumento de peso e a diminuição da densidade mineral óssea. Todavia, o tratamento destas consequências com THS não alivia o declínio precoce da função ovárica e da infertilidade resultante. O stress psicológico adicional da perda da fertilidade e os custos gerais associados no controlo a longo prazo da menopausa aumentam significativamente o impacto da galactosemia clássica nas mulheres afetadas (Hagen-Lillevik *et al.*, 2022).

6. GALACTOSEMIA TIPO 2

6.1 Caracterização do gene *GALK1* e da enzima GALK 1

O gene que codifica a enzima GALK (OMIM 604313) que se localiza no cromossoma 17q25.1(*chr17:75,751,469-75,765,236*) e está organizado em 9 exões, originando aproximadamente 7.3 kb de DNA genómico, encontra-se maioritariamente no citosol e na matriz extracelular. Já a enzima em si encontra-se ativa maioritariamente no fígado, dentro dos hepatócitos, sendo uma das enzimas essenciais para que a via de Leloir ocorra (Bergsma *et al.*, 1996; Ai *et al.*, 1995).

A enzima Galactocinase 1 (GALK1) é composta por um dímero formado por 392 aminoácidos, pertence à superfamília das GHMP (Galactocinase, homoserina cinase, mevalonato cinase e fosfomevalonato cinase) que é uma classificação que agrupa estas quatro enzimas sendo estas dependentes do ATP para a sua atividade metabólica (Megarity *et al.*, 2011; Zhou *et al.*, 2000).

6.2 Principais mutações e seus efeitos

Até 2018 foram documentadas 604 mutações no *locus GALK1*. Destas, 60 são patogénicas e 42 potencialmente patogénicas. As mais relevantes e com maior incidência são: a variante fundadora (p.Pro28Thr), comum na população Romani e a variante Osaka (p.Ala198Val) que é comum nas populações japonesa e coreana (Sneha *et al.*, 2018).

6.3 Fisiopatologia e principais complicações

Em casos de galactosemia tipo 2, a enzima GALK é afetada, impedindo a sua capacidade de transformar a galactose em galactose-1-fosfato, o que, conseqüentemente, faz com que a galactose seja transformada em galactitol pela enzima aldose redutase (está abundantemente presente nas células epiteliais, localizadas na parte anterior do cristalino) acumulando-se no corpo, especialmente no cristalino do olho através da diferença na pressão osmótica que faz com que ocorra inchaço no cristalino, subsequente ocorre a lise celular e a formação de cataratas (exemplo da figura 8). A fraca difusão do álcool no cristalino torna este órgão particularmente suscetível e muitas alterações bioquímicas ocorrem concomitantemente no cristalino quando ocorre a formação de cataratas. Estas alterações podem ser: a diminuição do transporte de aminoácidos, da síntese proteica, de

várias atividades enzimáticas e a alteração dos fluxos iônicos. As causas dos danos celulares causados pelo galactitol noutros órgãos são menos claras (Rubio-Gozalbo *et al.*, 2021).



Figura 8 – Consequências da alteração do metabolismo dos hidratos de carbono no olho (Medghalchi, A. *et al.*, 2021).

Um indivíduo com deficiência de galactocinase pode também desenvolver um pseudo tumor cerebral, que se caracteriza por uma pressão à volta do cérebro que imita os sintomas de um tumor cerebral (por exemplo, alterações da visão, náuseas e zumbidos nos ouvidos). O aumento da pressão resulta normalmente da acumulação de galactitol no líquido cefalorraquidiano (LCR) que envolve o cérebro e a espinal medula (Bosch *et al.*, 2003).

Outras complicações, menos comuns, incluem falta de coordenação, défice cognitivo, surdez, cabeça pequena, gónadas pequenas e crescimento lento em altura e peso (Rubio-Gozalbo *et al.*, 2021).

7. GALACTOSEMIA TIPO 3

7.1 Caracterização do Gene *GALE* e da Enzima *GALE*

GALE (OMIM 606953) é um gene com 13 exões originado aproximadamente 5 kb de DNA genómico, localizado no cromossoma 1p36.11, que codifica uma enzima com 348 aminoácidos. A enzima *GALE* (UDP-Galactose 4-Epimerase) contém um local de ligação ao NAD (Daude *et al.*, 1995).

A UDP-Galactose 4-Epimerase é um homodímero e um membro da família da desidrogenase/reductase de cadeia curta (DCC). O mecanismo catalítico requer o cofator NAD^+ que oxida transitoriamente a UDP-galactose, através da enzima *GALE* em UDP-glucose e uma molécula de NADH (Holden *et al.*, 2003).

7.2 Principais Mutações e seu efeito

Podem distinguir-se três tipos de galactosemia tipo 3: a forma periférica, a intermédia e a generalizada, que se associam a diferentes sintomas clínicos e variantes genéticas *GALE*. A forma periférica é considerada benigna, enquanto a forma intermédia e a generalizada não são benignas e necessitam de tratamento e acompanhamento médico. Até à data, as únicas variantes de *GALE* descritas em doentes que apresentam perturbações hematológicas são *GALE* p.Arg51Trp, p.Lys78ValfsX32, p.Val128Met, p.Thr150Met, p.Leu223Pro e p.Gly237Asp.

A doença associada ao gene *GALE* apresenta um padrão de hereditariedade autossómico recessivo (Seo *et al.*, 2018; Markovitz *et al.*, 2021).

7.3 Fisiopatologia e Principais Complicações

Os doentes com a forma periférica da galactosemia tipo 3 apresentam uma deficiência enzimática que se restringe às células sanguíneas, sendo considerada clinicamente benigna. Tem sido descrita como mais frequente em alguns grupos étnicos, como os afro-americanos. O fenótipo comum nestes doentes é causado pela acumulação de metabolitos da galactose e o tratamento baseia-se principalmente na restrição de lactose e derivados. No entanto, também foram descritos doentes com atividade enzimática reduzida sem galactosemia (Costa *et al.*, 2017; Openo *et al.*, 2006).

Por outro lado, a forma generalizada da galactosemia tipo 3 associa-se à deficiência da enzima em todos os tecidos, sendo mais grave e menos comum do que a forma periférica. Foram descritos vários doentes em todo o mundo com manifestações que podem incluir dificuldades de aprendizagem, atraso no crescimento, perda auditiva e cataratas de início precoce e, menos frequentemente, insuficiência cardíaca e hepatomegalia. Apesar da remoção da lactose e galactose da dieta, esta não é suficiente para prevenir complicações a longo prazo sendo os pacientes com esta variante desenvolverem complicações no decorrer da sua vida (Openo *et al.*, 2006).

Na última década, foram descritos alguns doentes com uma forma intermédia de galactosemia tipo 3, que apresentam manifestações síndromicas, menos marcadas do que na forma generalizada, devido a uma atividade enzimática marcadamente deficiente nas células sanguíneas, mas uma atividade superior a 50% em relação aos níveis normais noutros tipos de células comparada mente aos doentes com a forma mais severa da doença (Timson, 2006).

Recentemente, diferentes variantes associadas a galactosemia tipo 3 foram relacionadas com trombocitopenia grave, pancitopenia e, num doente, com a síndrome mielodisplásica (Marín-Quílez *et al.*, 2023).

A trombocitopenia observada nos doentes com défice em GALE está associada a redução da formação de pré-plaquetas devido à redução da glicosilação e externalização das integrinas GPIb α e β 1 para a superfície dos megacariócitos e das plaquetas, perturbando a remodelação do citoesqueleto de actina (Marín-Quílez *et al.*, 2023).

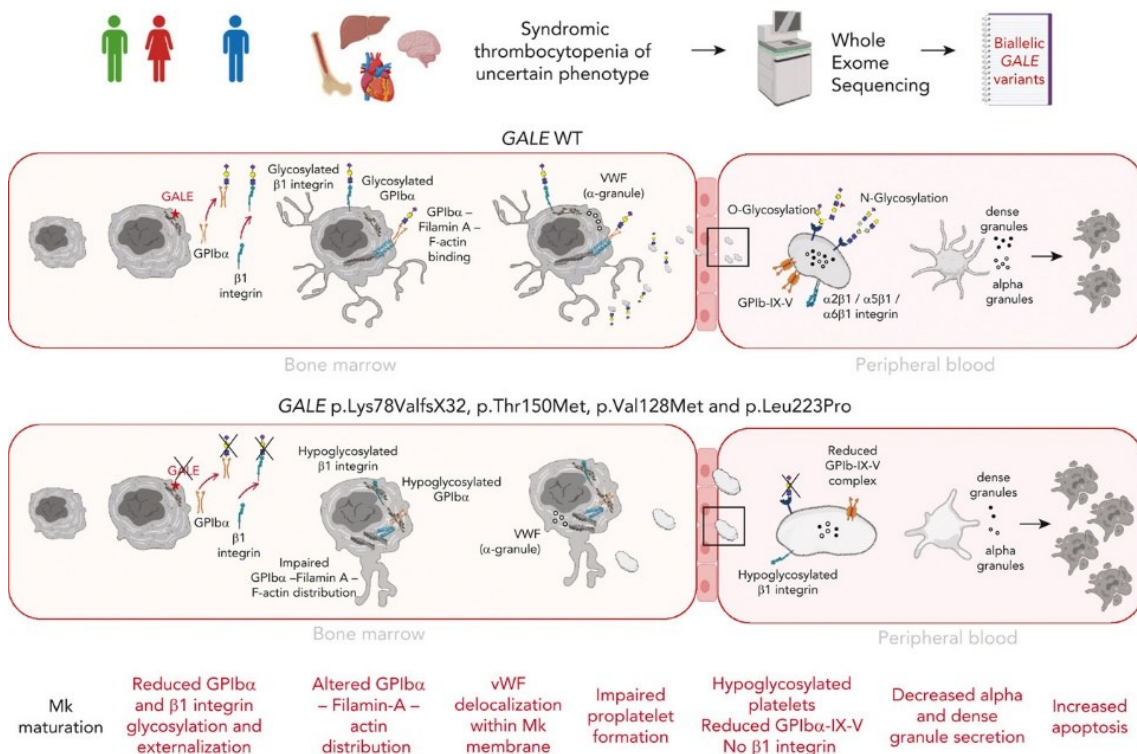


Figura 9 - Variantes de *GALE* causam macrotrombocitopenia Trombocitopenia síndromica de fenótipo incerto – Sequência completa do exoma - Variantes bialélicas da vesícula biliar. **Mk maturação de megacariócitos** – Glicosilação e externalização reduzidas de GPIb α e integrina β 1 - Alteração da GPIb α - Distribuição alterada da Filamina A e da actina – Deslocalização do FvW (fator de von Willebrand) na membrana do megacariócito – Formação de proplaquetas comprometida – Plaquetas hipoglicosiladas. Redução de GPIb α , Ausência de integrina β 1 – Diminuição da secreção de grânulos α e densos – Aumento da apoptose (Marín-Quílez *et al.*, 2023).

8. OPÇÕES DE TRATAMENTO DA GALACTOSEMIA E PERSPETIVAS FUTURAS

O tratamento da galactosemia é complexo e geralmente requer uma abordagem multidisciplinar ao longo da vida do doente (Welling *et al.*, 2016).

Um dos pilares fundamentais do tratamento é a restrição dietética que deve ser feita com ajuda especializada no sentido de permitir que se evitem alimentos que contenham lactose e galactose (Welling *et al.*, 2016); Blaauw *et al.*, 2023).

A lactose está presente no leite e em alimentos como a soja fermentada, legumes, molhos de tomate, etc. Algumas frutas e vegetais como couves de bruxelas, bananas, maçãs e tomates contêm galactose (Welling *et al.*, 2016).

Deve ainda ter-se especial atenção à composição de medicamentos e suplementos alimentares, os quais podem incluir, na composição, lactose ou galactose.

Além da dieta, os doentes podem precisar de suplementos nutricionais para garantir a ingestão adequada de nutrientes essenciais, como por exemplo cálcio, vitamina D e riboflavina (Welling *et al.*, 2016; Blaauw *et al.*, 2023).

O acompanhamento e a vigilância médica regular por parte de uma equipa especializada também é essencial para controlar o estado de saúde do doente, detetar possíveis complicações e ajustar o tratamento conforme se mostre necessário (Welling *et al.*, 2016).

É importante tratar quaisquer complicações de saúde associadas à galactosemia, como danos no fígado, problemas neurológicos e cataratas. O tratamento dessas complicações pode exigir diferentes intervenções médicas (Welling *et al.*, 2016; Blaauw *et al.*, 2023).

Além disso, o aconselhamento genético desempenha um papel importante no controlo da galactosemia, ajudando os doentes e as suas famílias a entender melhor a natureza hereditária da doença, discutir o risco de recorrência em futuras gestações e fornecer apoio emocional e educacional (Welling *et al.*, 2016; Blaauw *et al.*, 2023).

Relativamente aos novos tipos de técnicas que procuram substituir a restrição alimentar, até à data as únicas opções, em que as pessoas que sofrem de galactosemia se podem apoiar para não terem uma exacerbação da sua condição médica, não são muito fiáveis e, menos ainda, definitivas, pois embora se teorizem alternativas mais duradoras e até mesmo permanentes estas ainda não passam de em algumas situações meramente teóricas e, noutros casos, meras hipóteses mais desenvolvidas em que apesar de já se fazerem ensaios *in vitro* ou eventuais ensaios clínicos, ainda se encontram muito longe de poderem proporcionar uma alternativa promissora para a terapia mais conservadora.

Contudo, estas novas técnicas trazem aos doentes uma esperança de poderem vir a ter uma vida de menos restrições alimentares e dos problemas que lhe estão associados (Welling *et al.*, 2016).

8.1 Terapia com moléculas pequenas

Os chaperones farmacológicos são compostos de baixo peso molecular que se ligam especificamente ao seu alvo (proteínas) e as estabilizam (promovendo a correta dobragem de proteínas malformadas ou mal dobradas, facilitando a sua função celular adequada). Como tal, podem prevenir a sua degradação prematura. Embora os chaperones farmacológicos apresentem várias vantagens (como por exemplo, disponibilidade oral ou a potencialidade para atravessar a barreira hematoencefálica), não podem ser usados em todos os doentes, pois embora sejam eficazes em variantes *missense*, não são úteis em caso de deleções, de *splicing* ou de variantes no sítio ativo, devido à sua propriedade de antiagregação (Delnoy *et al.*, 2021).

A arginina tem sido estudada como uma opção de potencial tratamento para a galactosemia. Estudos iniciais (Haskovic *et al.*, 2018) sugeriram um potencial benéfico da arginina em variantes específicas de GALT; contudo, pesquisas subsequentes (Haskovic *et al.*, 2018) falharam a confirmação do efeito de estabilidade da GALT. No entanto, a definição do perfil de segurança, dosagem apropriada e indicações específicas em diferentes variantes da GALT continuam, à data da consulta do estudo, a referir grandes desafios importantes (Haskovic *et al.*, 2018; Delnoy *et al.*, 2021).

Vários compostos candidatos foram identificados, entre eles as fenilsulfonamidas que reduziram os níveis de galactose 1-P em fibroblastos de doentes estudados. Mais recentemente, foram identificados inibidores não competitivos da GALK1 com potencial para o desenvolvimento adicional em ensaios clínicos (Haskovic *et al.*, 2020).

Quanto aos inibidores de AR (Aldose redutase), visam a inibir a conversão de galactose em galactitol, que se vai acumular nas células, levando a turgidez celular e consequentemente a apoptose celular na galactosemia tipo 1. A acumulação de galactitol dentro do cristalino é especialmente perigosa pois esta causa cataratas, e também pode desempenhar um papel no desenvolvimento de sintomas neurológicos. Originalmente desenvolvidos para o tratamento da diabetes, os inibidores de AR diminuíram os níveis de galactitol no plasma, fígado e no cérebro prevenindo a formação de cataratas em ratos. São necessários estudos adicionais para avaliar se os inibidores de AR podem reduzir os

sintomas extraoculares (por exemplo, sintomas cognitivos). Além disso, o efeito potencial de bloquear a conversão de galactose em galactitol (Timson, 2020).

O stress do retículo endoplasmático (RE) foi demonstrado em fibroblastos de ratos sem a enzima GALT. O salubrinal é um inibidor do fator de iniciação eucariótico 2 α (eIF2 α) que regula positivamente a resposta ao stress celular, aliviando assim o RE. Observou-se ainda uma diminuição significativa da perda das células de Purkinje no cerebelo e de folículos ovarianos primordiais e em ratos sem a enzima GALT tratados com salubrinal, sem registo de reações adversas detetáveis. Em suma, o RE constitui um novo alvo terapêutico promissor a ser explorado na galactosemia clássica (Balakrishnan *et al.*, 2017).

8.2 Terapia de reposição genética

A terapia de reposição genética é uma abordagem inovadora que visa corrigir deficiências genéticas subjacentes em doentes com doenças metabólicas hereditárias. Essa técnica envolve a introdução de material genético funcional em células do doente para compensar a falta de produto devida a mutação no gene específico que causa a doença (Rutten *et al.*, 2019; Schneller *et al.*, 2017).

O processo de terapia de reposição genética geralmente começa com a identificação da mutação genética responsável pela doença. Em seguida, os investigadores desenvolvem vetores que podem ser virais ou não virais que transportam o gene correto para as células do doente. Esses vetores são então administrados ao doente por meio de terapias sistémicas, como infusões intravenosas (Rutten *et al.*, 2019; Schneller *et al.*, 2017).

Estas terapias incluem a terapia genética e a terapia de mRNA e visam a restaurar a atividade da GALT em até 10-15%. A terapia genética de GALT com vários vetores de adenovírus (AV) resultou no aumento dos níveis de GALT no fígado (64-95%) e no cérebro (3-42%) em ratos sem a enzima GALT e sem efeitos adversos significativos. Observou-se também uma redução nas concentrações de galactose, galactitol e galactose 1-P no fígado, sangue e cérebro, bem como uma melhoria no aparecimento e desaparecimento das cataratas.

Melhoria bioquímica e clínica foi observada por uma duração de até 2 meses em ratos submetidos ao tratamento, sugerindo eficácia da substituição genética. Atividade e nível de proteína de GALT restaurados, assim como redução do stress oxidativo, também

foram observados em fibroblastos de pacientes com GC (Galactosemia clássica) que receberam tratamento através do plasmídeo AV2-hGALT.

Apesar de seu potencial benefício, a diferença observada entre a atividade de GALT no fígado e no cérebro, bem como a resposta do sistema imunitário ao vetor AV e a instabilidade genómica, requerem estudos adicionais antes que a terapia genética possa ser traduzida para a prática clínica (Rasmussen *et al.*, 2020; Delnoy *et al.*, 2021).

O mRNA pode ser encapsulado em vários veículos como por exemplo, lipossomas, nanopartículas e vírus estes deslocam-se até ao local de ação, onde são traduzidos em proteínas funcionais. Uma única dose de mRNA de GALT logo após o nascimento reduziu a mortalidade em camundongos deficientes em GALT alimentados com uma dieta de leite.

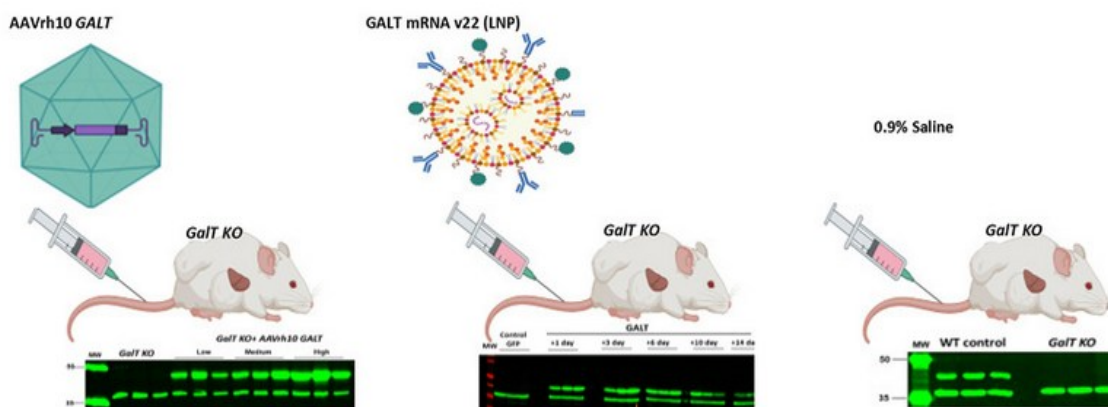


Figura 10 – Ilustração da terapia de reposição genética com adenovírus e mRNA. Adaptado de Balakrishnan, B., et al. (2024).

Além disso, um aumento da dose depende da expressão e atividade da GALT no fígado, bem como uma diminuição nas concentrações de galactose 1-P no fígado, glóbulos vermelhos e tecidos periféricos, foram observados em camundongos deficientes em GALT tratados com mRNA de GALT usando nanopartículas lipídicas (LNP). A adaptação de LNP para que esta possa ser usada em tecidos extra-hepáticos (como por exemplo o cérebro e as gónadas), definir o intervalo de dosagem mais eficaz e avaliar a resposta imunitária induzida pelo mRNA permanecem desafios importantes para o

desenvolvimento da terapia de mRNA como tratamento para a galactosemia clássica (Cring & Sheffield, 2020).

Embora a terapia de reposição genética ofereça esperança para muitos doentes com doenças metabólicas hereditárias, ainda há desafios a serem superados. Estes incluem a eficiência e a segurança da entrega do gene, a resposta imunológica do doente ao vetor e à terapia e a necessidade de desenvolver abordagens personalizadas para diferentes condições e doentes.

Apesar dos desafios, a terapia de reposição genética representa um campo promissor da medicina, uma vez que tem o potencial de mudar o paradigma atual do tratamento de doenças metabólicas hereditárias.

8.3 Inibidores da aldose redutase

O govorestat (inicialmente designado AT-007) é um novo inibidor da aldose redutase (ARI) em fase de investigação, que está a ser desenvolvido para o tratamento de várias doenças raras, incluindo a galactosemia, a deficiência de sorbitol desidrogenase (SORD) e a deficiência de fosfomanomutase 2 (PMM2-CDG - uma doença congénita da glicosilação). O govorestat é um composto potente e seletivo, que atravessa a barreira hematoencefálica, o que lhe permite atuar no Sistema Nervoso Central (Perfetti *et al.*, 2024; Randall *et al.*, 2022).

Num estudo em crianças com galactosemia com idades entre os 2 e os 17 anos, o tratamento com govorestat demonstrou benefícios clínicos nas atividades da vida diária, nos sintomas comportamentais, na cognição, na mobilidade e no tremor. O govorestat reduziu significativamente os níveis plasmáticos de galactitol (um metabólito tóxico que é produzido nos casos em que uma pessoa sofre de galactosemia, sendo considerado, atualmente, o metabólito mais importante na fisiopatologia da galactosemia) aproximadamente em 50% (nas doses de 40 e 20 mg/kg) tanto em adultos como em crianças com galactosemia (Perfetti *et al.*, 2024; Randall *et al.*, 2022).

O govorestat inibe seletiva e potentemente a aldose redutase, a enzima responsável pela formação do galactitol. Em ensaios clínicos (Perfetti *et al.*, 2024) concluiu-se que a presença deste fármaco reduziu substancialmente os níveis de galactitol em todos os tecidos estudados, incluindo o sangue, cérebro e o fígado, não afetando os níveis quer de galactose quer de Gal-1-P em doentes a fazer restrições alimentares de lactose (Perfetti *et al.*, 2024; Randall *et al.*, 2022).

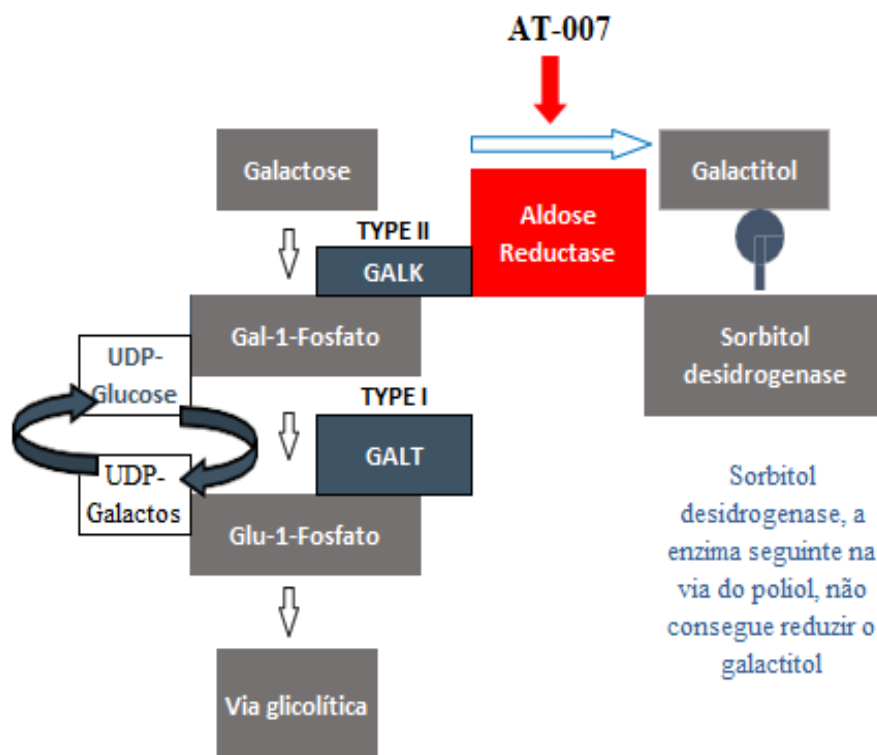


Figura 11 - Representação gráfica da atuação do AT-007 na via da produção de galactitol. Gal-1 P: Galactose-1-fosfato; GALK: Galactocinase; GALT - Galactose-1-fosfato uridiltransferase; Glu-1-P - Glicose-1-fosfato; UDP-Gal - Uridina difosfato-galactose; UDP-Glu - Uridina difosfato-glicose.

Num estudo (Perfetti *et al.*, 2024b) de segurança farmacocinética e farmacodinâmica, o govorestat (AT-007) foi considerado seguro e bem tolerado em adultos saudáveis e em doentes adultos com GC. Os efeitos indesejáveis foram maioritariamente ligeiros e ocorreram equilibradamente entre os grupos sem padrões discerníveis. Não foram registados quaisquer reações adversas graves ou mortes pelo que não foi necessária a descontinuação da toma.

As taxas de reações adversas foram mais baixas nos doentes que receberam govorestat 20 ou 40 mg/kg em comparação com os doentes tratados com o placebo ou com a dose de 5 mg/kg (Perfetti *et al.* 2024).

Realizaram-se estudos *multiple ascending dose* (MAD) envolvendo participantes saudáveis e doentes com GC e foi observado um aumento linear, dependente da dose, nos níveis plasmáticos de govorestat, assim como na penetração no LCR que foi documentada em participantes saudáveis após 7 dias. Usou-se um modelo de 2 compartimentos com absorção sequencial de ordem zero e de primeira ordem que forneceu uma boa descrição

das concentrações de govorestat tanto em participantes saudáveis como em doentes com GC.

A farmacocinética do govorestat pareceu ser semelhante entre as duas populações estudadas (doentes com GC e pessoas saudáveis). Não foram encontrados fatores demográficos que influenciasses a farmacocinética do govorestat. Em doentes com GC, a C_{máx} e a AUC_{tau} aumentaram com doses crescentes de govorestat e a semivida plasmática foi de aproximadamente 10 h em doses terapêuticas de 20 e 40 mg/kg. As simulações farmacocinéticas/farmacodinâmicas, tendo em conta a farmacocinética do govorestat e os níveis associados de redução do galactitol apontam para um regime aconselhado de dosagem de uma vez por dia (Perfetti *et al.* 2024).

As concentrações de galactitol reduziram com o aumento da dose a que o indivíduo estava a ser submetido, embora não se tenha observado quaisquer efeitos mensuráveis nas concentrações sanguíneas de galactose e de Gal-1-p (Perfetti *et al.* 2024).

O govorestat recebeu a designação de medicamento órfão⁴ pela Agência Europeia de Medicamentos (EMA) e de doença pediátrica rara pela Food and Drug Administration (FDA) dos EUA para o tratamento da galactosemia.

Um novo pedido de autorização de introdução no mercado (AIM) para o govorestat foi aceite para revisão prioritária pela FDA e o pedido de autorização de introdução no mercado (AIM) foi validado e está atualmente a ser revisto pelo Comité dos Medicamentos para Uso Humano (CHMP) da EMA para o tratamento da galactosemia.

⁴ Na legislação Europeia, de acordo com o [Regulamento \(CE\) N.º 141/2000 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 16 de Dezembro de 1999](#), na sua redação atual: *Um medicamento pode ser designado medicamento órfão se o respectivo promotor puder comprovar que: a) Se destina ao diagnóstico, prevenção ou tratamento de uma patologia na Comunidade que ponha a vida em perigo ou seja cronicamente debilitante e que afecte até cinco pessoas em 10 mil no momento em que o pedido é apresentado, ou se destina ao diagnóstico, prevenção ou tratamento de uma patologia na Comunidade que ponha a vida em perigo, seja gravemente debilitante ou seja grave e crónica, e que é pouco provável que, sem incentivos, a comercialização desse medicamento na Comunidade possa gerar receitas que justifiquem o investimento necessário; e b) Não existe qualquer método satisfatório de diagnóstico, prevenção ou tratamento de tal patologia que tenha sido autorizado na Comunidade ou, caso exista, que o medicamento em questão oferece um benefício significativo àqueles que sofram dessa patologia.*

CONCLUSÃO

Desde que foi documentada pela primeira vez, em 1908, a galactosemia tem sido um exemplo de como a restrição alimentar pode mitigar a toxicidade sistémica provocada pela incapacidade de processar a galactose. Contudo, apesar de quase um século de estudo, a fisiopatologia da galactosemia permanece uma questão complexa e pouco compreendida.

A galactosemia é um conjunto de doenças que afetam várias enzimas responsáveis pela digestão das moléculas de galactose. Os principais tipos são a galactosemia clássica (tipo 1), que afeta a enzima GALT; a deficiência em galactocinase (tipo 2), que afeta a enzima GALK1; e a deficiência em UDP-galactose-4-epimerase (tipo 3).

Não obstante os potenciais benefícios para os doentes, a triagem neonatal ainda não é uma prática comum em muitas partes do mundo. Diagnosticar a doença precocemente e submeter o doente a uma dieta restritiva poderia reduzir significativamente as complicações a curto, médio e longo prazo.

Neste trabalho, descreveu-se detalhadamente o metabolismo da galactose e os diversos tipos de galactosemia, com ênfase nas opções de tratamento e nas perspectivas futuras para estes doentes.

A galactosemia, especialmente nas suas formas clássica e generalizada, continua a ser um desafio clínico significativo devido à diversidade de manifestações clínicas e à complexidade da gestão da terapêutica e da dieta.

Através da análise das diferentes abordagens terapêuticas, como a terapia com moléculas pequenas, a terapia de reposição genética e os inibidores da aldose redutase, destacam-se avanços que oferecem esperança de melhoria na qualidade de vida dos doentes. Em termos de perspectivas futuras e relativamente a possíveis tratamentos, o mais promissor é o govorestat (AT-007), um inibidor seletivo e potente da aldose redutase, enzima que produz o galactitol, responsável pelas complicações associadas à galactosemia. Este tratamento está atualmente em fase de ensaios clínicos.

Apesar dos progressos, mantém-se a necessidade de desenvolver métodos seguros e eficazes para a entrega de genes, lidar com respostas imunológicas e adaptar a terapêutica a diferentes mutações genéticas. Além disso, é crucial aprofundar os estudos em modelos pré-clínicos e clínicos para validar a eficácia e a segurança destas novas terapias.

Em suma, embora a galactosemia apresente muitos desafios, os avanços na pesquisa genética e molecular estão a abrir caminho para tratamentos mais eficazes e

personalizados. É crucial investir em pesquisas e ensaios clínicos para permitir que estas inovações possam ser incluídas na prática clínica.

Adicionalmente, é essencial que a triagem dos recém-nascidos seja mais efetiva, tanto em Portugal como no resto do mundo, para prevenir as graves consequências desta doença metabólica rara, como problemas cognitivos, cataratas precoces, problemas de mobilidade e, em casos mais extremos, a morte de recém-nascidos que não sejam submetidos às necessárias restrições alimentares de galactose.

BIBLIOGRAFIA

- Ai, Y., Jenkins, N. A., Copeland, N. G., Gilbert, D. H., Bergsma, D. J., & Stambolian, D. (1995). Mouse galactokinase: isolation, characterization, and location on chromosome 11. *Genome Research*, 5(1), 53–59. <https://doi.org/10.1101/gr.5.1.53>
- Balakrishnan, B., et al. (2024). Whole-body galactose oxidation as a robust functional assay to assess the efficacy of gene-based therapies in a mouse model of Galactosemia. *Molecular Therapy Methods & Clinical Development*, 32(1), 101191. <https://doi.org/10.1016/j.omtm.2024.101191>.
- Balakrishnan, B., Nicholas, C., Siddiqi, A., Chen, W., Bales, E. S., Feng, M., Johnson, J., & Lai, K. (2017). Reversal of aberrant PI3K/Akt signaling by Salubrinal in a GalT-deficient mouse model. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1863(12), 3286–3293. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2017.08.023>
- Bergsma, D. J., Ai, Y., Skach, W. R., Nesburn, K., Anoaia, E., Van Horn, S., & Stambolian, D. (1996). Fine structure of the human galactokinase GALK1 gene. *Genome Research*, 6(10), 980–985. <https://doi.org/10.1101/gr.6.10.980>
- Berry, G. T. (2021, March 11). *Classic galactosemia and clinical variant galactosemia*. GeneReviews® - NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1518/>
- Berry, G. T., Hunter, J. V., Wang, Z., Dreha, S. F., Mazur, A., Brooks, D. G., Segal, S. (2001). In vivo evidence of brain galactitol accumulation in an infant with galactosemia and encephalopathy. *The Journal of Pediatrics, The Journal of Pediatrics*, 138(2), 260–262. <https://doi.org/10.1067/mpd.2001.110423>
- Berry, G. T., Nissim, I., Gibson, J. B., Mazur, A. T., Lin, Z., Elsas, L. J., Singh, R. H., Klein, P. D., & Segal, S. (1997). Quantitative assessment of whole body galactose metabolism in galactosemic patients. *European Journal of Pediatrics*, 156(S1), S43–S49. <https://doi.org/10.1007/pl00014271>
- Bosch, A. M., Bakker, H. D., Van Gennip, A. H., Van Kempen, J. V., Wanders, R. J. A., & Wijburg, F. A. (2003). Clinical features of galactokinase deficiency: A review of the literature. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 25(8), 629–634. <https://doi.org/10.1023/a:1022875629436>
- Cerone, J., & Rios, A. (2019). Galactosemia. *Pediatrics in Review*, 40 (Supplement_1), 24–27. <https://doi.org/10.1542/pir.2018-0150>
- Coelho, A. D., Rubio-Gozalbo, M. E., Vicente, J. B., & Rivera, I. (2017). Sweet and sour: an update on classic galactosemia. *Journal of Inherited Metabolic Disease*

- Journal of Inherited Metabolic Disease*, 40(3), 325–342.
<https://doi.org/10.1007/s10545-017-0029-3>
- Coelho, A. I., Trabuco, M. C., Silva, M. J., De Almeida, I. T., Leandro, P., Rivera, I., & Vicente, J. B. (2015). Arginine functionally improves clinically relevant human Galactose-1-Phosphate uridylyltransferase (GALT) variants expressed in a prokaryotic model. In *JIMD reports* (pp. 1–6). Wiley.
https://doi.org/10.1007/8904_2015_420
- Coss, K. P., Doran, P. P., Owoeye, C., Codd, M. B., Hamid, N., Mayne, P. D., Crushell, E., Knerr, I., Monavari, A. A., & Treacy, E. P. (2012). Classical Galactosaemia in Ireland: incidence, complications and outcomes of treatment. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 36(1), 21–27.
<https://doi.org/10.1007/s10545-012-9507-9>
- Costa, F. D., Ferdinandusse, S., Pinto, C., Dias, A., Keldermans, L., Quelhas, D., Matthijs, G., Mooijer, P. A., Diogo, L., Jaeken, J., & Garcia, P. (2017). Galactose epimerase deficiency: Expanding the phenotype. *JIMD Reports*, 19–25. https://doi.org/10.1007/8904_2017_10
- Cring, M. R., & Sheffield, V. C. (2020). Gene therapy and gene correction: targets, progress, and challenges for treating human diseases. *Gene Therapy*, 29(1–2), 3–12. <https://doi.org/10.1038/s41434-020-00197-8>
- Darma, A., Sumitro, K. R., Jo, J., & Sitorus, N. (2024). Lactose Intolerance versus Cow's Milk Allergy in Infants: A Clinical Dilemma. *Nutrients*, 16(3), 414. <https://doi.org/10.3390/nu16030414>
- Daude, N., Gallaher, T., Zeschnigk, M., Starzinski-powitz, A., Petry, K., Haworth, I., & Reichardt, J. (1995). Molecular-Cloning, characterization, and mapping of a Full-Length CDNA encoding human UDP-Galactose 4'-Epimerase. *Biochemical and Molecular Medicine*, 56(1), 1–7. <https://doi.org/10.1006/bmme.1995.1048>
- Delnoy, B., Coelho, A. I., & Rubio-Gozalbo, M. E. (2021). Current and future treatments for classic galactosemia. *Journal of Personalized Medicine*, 11(2), 75. <https://doi.org/10.3390/jpm11020075>
- Elsas, L. J., Dembure, P. P., Langley, S., Paulk, E. M., Hjelm, L. N., & Fridovich-Keil, J. (1994). A common mutation associated with the Duarte galactosemia allele. *PubMed*, 54(6), 1030–1036. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8198125>
- Fontes, E. a. F., Passos, F. M. L., Passos, F. J. V., & Fontes, P. R. (2008). Cinética de inibição por galactose e glicose na hidrólise de lactose por b-galactosidase em massa de células permeabilizadas de *Kluyveromyces lactis*. *DOAJ (DOAJ: Directory of Open Access Journals)*. <https://doaj.org/article/ed320c0e19ac4bbf8f9b662035e23994>

- Fridovich-Keil, J. L., Gubbels, C. S., Spencer, J. B., Sanders, R. D., Land, J. A., & Rubio-Gozalbo, E. (2010). Ovarian function in girls and women with GALT-deficiency galactosemia. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, *34*(2), 357–366. <https://doi.org/10.1007/s10545-010-9221-4>
- GALT galactose-1-phosphate uridylyltransferase [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI.* (n.d.). https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2592?_ga=2.249588742.1009558607.1726575859-468307541.1720366436
- Garrett, O. S., Druss, J. J., Vos, E. N., Fu, Y. D., Lucia, S., Greenstein, P. E., Bauer, A., Sykut-Cegielska, J., Stepien, K. M., Arbuckle, C., Grafakou, O., Meyer, U., Vanhoutvin, N., Pané, A., Bosch, A. M., Rubio-Gozalbo, E., Berry, G. T., & Fridovich-Keil, J. L. (2024). Health and well-being of maturing adults with classic galactosemia. *Journal of Inherited Metabolic Disease*. <https://doi.org/10.1002/jimd.12786>
- Geeganage, S., & Frey, P. A. (1999). Significance of metal ions in Galactose-1-Phosphate uridylyltransferase: an essential structural zinc and a nonessential structural iron. *Biochemistry*, *38*(40), 13398–13406. <https://doi.org/10.1021/bi9910631>
- Gitzelmann, R. (1969). Formation of Galactose-1-Phosphate from Uridine Diphosphate Galactose in Erythrocytes from Patients with Galactosemia [31]. *Pediatric Research*, *3*(4), 279–286. <https://doi.org/10.1203/00006450-196907000-00003>
- Hagen-Lillevik, S., Johnson, J., & Lai, K. (2022). Early postnatal alterations in follicular stress response and survival in a mouse model of Classic Galactosemia. *Journal of Ovarian Research*, *15*(1). <https://doi.org/10.1186/s13048-022-01049-2>
- Haskovic, M., Coelho, A. D., Bierau, J., Vanoevelen, J., Steinbusch, L. K., Zimmermann, L. J. I., Villamor-Martínez, E., Berry, G. T., & Rubio-Gozalbo, M. E. (2020). Pathophysiology and targets for treatment in hereditary galactosemia: A systematic review of animal and cellular models. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, *43*(3), 392–408. <https://doi.org/10.1002/jimd.12202>
- Haskovic, M., Derks, B., Van Der Ploeg, L., Trommelen, J., Nyakayiru, J., Van Loon, L. J. C., Mackinnon, S., Yue, W. W., Peake, R. W. A., Zha, L., Demirbas, D., Qi, W., Huang, X., Berry, G. T., Achten, J., Bierau, J., Rubio-Gozalbo, M. E., & Coelho, A. I. (2018). Arginine does not rescue p.Q188R mutation deleterious effect in classic galactosemia. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, *13*(1). <https://doi.org/10.1186/s13023-018-0954-8>

- Holden, H. M., Rayment, I., & Thoden, J. B. (2003). Structure and function of enzymes of the Leloir pathway for galactose metabolism. *Journal of Biological Chemistry*, 278(45), 43885–43888. <https://doi.org/10.1074/jbc.r300025200>
- Holden, H. M., Rayment, I., & Thoden, J. B. (2003). Structure and function of enzymes of the Leloir pathway for galactose metabolism. *Journal of Biological Chemistry*, 278(45), 43885–43888. <https://doi.org/10.1074/jbc.r300025200>
- Hughes, J., Ryan, S., Lambert, D., Geoghegan, O., Clark, A., Rogers, Y., Hendroff, U., Monavari, A., Twomey, E., & Treacy, E. P. (2009). Outcomes of Siblings with Classical Galactosemia. *The Journal of Pediatrics*, 154(5), 721–726. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2008.11.052>
- Kaufman, F. R., Kogut, M. D., Donnell, G. N., Goebelsmann, U., March, C., & Koch, R. (1981). Hypergonadotropic Hypogonadism in Female Patients with Galactosemia. *New England Journal of Medicine*, 304(17), 994–998. <https://doi.org/10.1056/nejm198104233041702>
- Kaufman, F. R., McBride-Chang, C., Manis, F. R., Wolff, J. A., & Nelson, M. D. (1995). Cognitive functioning, neurologic status and brain imaging in classical galactosemia. *European Journal of Pediatrics*, 154(S2), S2–S5. <https://doi.org/10.1007/bf02143794>
- Kotb, M. A., Mansour, L., & Shamma, R. A. (2019). Screening for galactosemia: is there a place for it? *International Journal of General Medicine*, 12, 193–205. <https://doi.org/10.2147/ijgm.s180706>
- Marín-Quílez, A., Di Buduo, C. A., Benito, R., Balduini, A., Rivera, J., & Bastida, J. M. (2023). GALE variants associated with syndromic manifestations, macrothrombocytopenia, bleeding, and platelet dysfunction. *Platelets*, 34(1). <https://doi.org/10.1080/09537104.2023.2176699>
- Marín-Quílez, A., Di Buduo, C. A., Díaz-Ajenjo, L., Abbonante, V., Vuelta, E., Soprano, P. M., Miguel-García, C., Santos-Mínguez, S., Serramito-Gómez, I., Ruiz-Sala, P., Peñarrubia, M. J., Pardal, E., Hernández-Rivas, J. M., González-Porras, J. R., García-Tuñón, I., Benito, R., Rivera, J., Balduini, A., & Bastida, J. M. (2023). Novel variants in GALE cause syndromic macrothrombocytopenia by disrupting glycosylation and thrombopoiesis. *Blood*, 141(4), 406–421. <https://doi.org/10.1182/blood.2022016995>
- Markovitz, R., Owen, N., Satter, L. F., Kirk, S., Mahoney, D. H., Bertuch, A. A., & Scaglia, F. (2021). Expansion of the clinical phenotype of GALE deficiency. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 185(10), 3118–3121. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.62384>

- Medghalchi A, Hassanzadeh Rad A, Dalili S. The Ophthalmological Manifestations of Various Inborn Errors of Metabolism: A Narrative Review. *J. Pediatr. Rev* 2021; 9 (2): 137-144 <http://jpr.mazums.ac.ir/article-1-351-en.html>
- Megarthy, C. F., Huang, M., Warnock, C., & Timson, D. J. (2011). The role of the active site residues in human galactokinase: Implications for the mechanisms of GHMP kinases. *Bioorganic Chemistry*, 39(3), 120–126. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2011.03.001>
- Misselwitz, B., Pohl, D., Frühauf, H., Fried, M., Vavricka, S. R., & Fox, M. (2013). Lactose malabsorption and intolerance: pathogenesis, diagnosis and treatment. *United European Gastroenterology Journal*, 1(3), 151–159. <https://doi.org/10.1177/2050640613484463>
- Openo, K. K., Schulz, J. M., Vargas, C. A., Orton, C. S., Epstein, M. P., Schnur, R. E., Scaglia, F., Berry, G. T., Gottesman, G. S., Ficicioglu, C., Slonim, A. E., Schroer, R. J., Yu, C., Rangel, V. E., Keenan, J., Lamance, K., & Fridovich-Keil, J. L. (2006). Epimerase-Deficiency Galactosemia is not a binary condition. *The American Journal of Human Genetics*, 78(1), 89–102. <https://doi.org/10.1086/498985>
- Panis, B., Gerver, W. M., & Rubio-Gozalbo, M. E. (2006). Growth in treated classical galactosemia patients. *European Journal of Pediatrics*, 166(5), 443–446. <https://doi.org/10.1007/s00431-006-0255-4>
- Panis, B., Vos, E. N., Barić, I., Bosch, A. M., Brouwers, M. C. G. J., Burlina, A., Cassiman, D., Coman, D. J., Couce, M. L., Das, A. M., Demirbas, D., Empain, A., Gautschi, M., Grafakou, O., Grunewald, S., Kingma, S. D. K., Knerr, I., Leão-Teles, E., Möslinger, D., Rubio-Gozalbo, M. E. (2024). Brain function in classic galactosemia, a galactosemia network (GalNet) members review. *Frontiers in Genetics*, 15. <https://doi.org/10.3389/fgene.2024.1355962>
- Pasquali, M., Yu, C., & Coffee, B. (2018). Laboratory diagnosis of galactosemia: a technical standard and guideline of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genetics in medicine*, 20(1), 3–11. <https://doi.org/10.1038/gim.2017.172>
- Perfetti, R., Bailey, E., Wang, S., Mills, R., Mohanlal, R., & Shendelman, S. (2024). Safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of the new Aldose reductase inhibitor GOVOREStAt (AT-007) after a single and multiple doses in participants in a phase 1/2 study. *The Journal of Clinical Pharmacology*. <https://doi.org/10.1002/jcph.2495>
- Pintor J (2012) Sugars, the crystalline lens and the development of cataracts. *Biochem Pharmacol* 1, e119. DOI: 10.4172/2167-0501.1000e119

- Quelhas, D., Kingma, S. D., Jonckheere, A. I., Smeets-Peels, C. S., Gomes, D. C., Duro, J., Oliveira, A., Matthijs, G., Steinbusch, L. K., Jaeken, J., Rivera, I., & Rubio-Gozalbo, E. (2024). Natural history of three late-diagnosed classic Galactosemia patients. *Molecular Genetics and Metabolism Reports*, 38, 101057. <https://doi.org/10.1016/j.ymgmr.2024.101057>
- Randall, J. A., Sutter, C., Wang, S., Bailey, E., Raither, L., Perfetti, R., Shendelman, S., & Burbridge, C. (2022). Qualitative interviews with adults with Classic Galactosemia and their caregivers: disease burden and challenges with daily living. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s13023-022-02287-9>
- Rasmussen, S. A., Daenzer, J. M. I., & Fridovich-Keil, J. L. (2020). A pilot study of neonatal GALT gene replacement using AAV9 dramatically lowers galactose metabolites in blood, liver, and brain and minimizes cataracts in GALT-null rat pups. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 44(1), 272–281. <https://doi.org/10.1002/jimd.12311>
- Reichardt, J. K., & Berg, P. (1988). Cloning and characterization of a cDNA encoding human galactose-1-phosphate uridyl transferase. *Molecular biology & medicine*, 5(2), 107–122.
- Reichardt, J. K., & Woo, S. L. (1991). Molecular basis of galactosemia: mutations and polymorphisms in the gene encoding human galactose-1-phosphate uridylyltransferase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88(7), 2633–2637. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.7.2633>
- Romero-Velarde, E., Delgado-Franco, D., García-Gutiérrez, M., Gurrola-Díaz, C., Larrosa-Haro, A., Montijo-Barrios, E., Muskiet, F. a. J., Vargas-Guerrero, B., & Geurts, J. (2019). The importance of lactose in the human diet: Outcomes of a Mexican consensus meeting. *Nutrients*, 11(11), 2737. <https://doi.org/10.3390/nu11112737>
- Rubio-Gozalbo, M. E., Derks, B., Das, A. M., Meyer, U., Möslinger, D., Couce, M. L., Empain, A., Ficiocioglu, C., Palacios, N. J., De Los Santos De Pelegrin, M. M., Rivera, I. A., Scholl-Bürgi, S., Bosch, A. M., Cassiman, D., Demirbas, D., Gautschi, M., Knerr, I., Labrune, P., Skouma, A., . . . Berry, G. T. (2021). Galactokinase deficiency: lessons from the GalNet registry. *Genetics in Medicine*, 23(1), 202–210. <https://doi.org/10.1038/s41436-020-00942-9>
- Rubio-Gozalbo, M. E., Gubbels, C. S., Bakker, J. A., Menheere, P. P. C. A., Wodzig, W. K. W. H., & Land, J. A. (2009). Gonadal function in male and female patients with classic galactosemia. *Human Reproduction Update*, 16(2), 177–188. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmp038>

- Santos, J., Freire, A. P., Mira, L. B., Azevedo, M., & Manso, C. (1984). Metabolismo do sorbitol e diabetes. *DOAJ (DOAJ: Directory of Open Access Journals)*. <https://doi.org/10.20344/amp.3751>
- Schadewaldt, P., Kamalanathan, L., Hammen, H., Kotzka, J., & Wendel, U. (2014). Endogenous galactose formation in galactose-1-phosphate uridyltransferase deficiency. *Archives of Physiology and Biochemistry*, *120*(5), 228–239. <https://doi.org/10.3109/13813455.2014.962547>
- Schneller, J. L., Lee, C. M., Bao, G., & Venditti, C. P. (2017). Genome editing for inborn errors of metabolism: advancing towards the clinic. *BMC Medicine*, *15*(1). <https://doi.org/10.1186/s12916-017-0798-4>
- Seo, A., Gulsuner, S., Pierce, S., Ben-Harosh, M., Shalev, H., Walsh, T., Krasnov, T., Dgany, O., Doulatov, S., Tamary, H., Shimamura, A., & King, M. (2018). Inherited thrombocytopenia associated with mutation of UDP-galactose-4-epimerase (GALE). *Human Molecular Genetics*, *28*(1), 133–142. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddy334>
- Shakerdi, L. A., Wallace, L., Smyth, G., Madden, N., Clark, A., Hendroff, U., McGovern, M., Connellan, S., Gillman, B., & Treacy, E. P. (2022). Determination of the lactose and galactose content of common foods: Relevance to galactosemia. *Food Science & Nutrition*, *10*, 3789–3800. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2976>
- Sneha, P., Ebrahimi, E., Ghazala, S. A., D, T. K., Siva, R., C, G. P. D., & Zayed, H. (2018). Structural analysis of missense mutations in galactokinase 1 (GALK1) leading to galactosemia type-2. *Journal of Cellular Biochemistry*, *119*(9), 7585–7598. <https://doi.org/10.1002/jcb.27097>
- Succoio, M., Sacchetti, R., Rossi, A., Parenti, G., & Ruoppolo, M. (2022). Galactosemia: biochemistry, molecular genetics, newborn screening, and treatment. *Biomolecules*, *12*(7), 968. <https://doi.org/10.3390/biom12070968>
- Szegedi, M., Zelei, T., Arickx, F., Bucsics, A., Cohn-Zanchetta, E., Fürst, J., Kamusheva, M., Kawalec, P., Petrova, G., Slaby, J., Stawowczyk, E., Vocelka, M., Zechmeister-Koss, I., Kaló, Z., & Molnár, M. J. (2018). The European challenges of funding orphan medicinal products. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, *13*(1). <https://doi.org/10.1186/s13023-018-0927-y>
- Timmers, I., Zhang, H., Bastiani, M., Jansma, B. M., Roebroek, A., & Rubio-Gozalbo, M. E. (2014). White matter microstructure pathology in classic galactosemia revealed by neurite orientation dispersion and density imaging. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, *38*, 295–304. <https://doi.org/10.1007/s10545-014-9780-x>
- Timson, D. (2006). The structural and molecular biology of type III galactosemia. *IUBMB Life*, *58*(2), 83–89. <https://doi.org/10.1080/15216540600644846>

- Timson, D. J. (2020). Therapies for galactosemia: a patent landscape. *Pharmaceutical Patent Analyst*, 9(2), 45–51. <https://doi.org/10.4155/ppa-2020-0004>
- Timson, D. J., & Reece, R. J. (2003). Identification and characterisation of human aldose 1-epimerase. *FEBS Letters*, 543(1–3), 21–24. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(03\)00364-8](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(03)00364-8)
- Tișa, I. B., Achim, A. C., & Cozma-Petruț, A. (2022). The importance of neonatal screening for galactosemia. *Nutrients*, 15(1), 10. <https://doi.org/10.3390/nu15010010>
- Van Calcar, S. C., Bernstein, L., Rohr, F. J., Scaman, C. H., Yannicelli, S., & Berry, G. T. (2014). A re-evaluation of life-long severe galactose restriction for the nutrition management of classic galactosemia. *Molecular Genetics and Metabolism*, 112(3), 191–197. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2014.04.004>
- Wehrli, S. L., Berry, G. T., Palmieri, M., Mazur, A., Elsas, L., & Segal, S. (1997). Urinary Galactonate in Patients with Galactosemia: Quantitation by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *Pediatric Research*, 42(6), 855–861. <https://doi.org/10.1203/00006450-199712000-00022>
- Welling, L., Bernstein, L. E., Berry, G. T., Burlina, A. B., Eyskens, F., Gautschi, M., Grünewald, S., Gubbels, C. S., Knerr, I., Labrune, P., Van Der Lee, J. H., MacDonald, A., Murphy, E., Portnoi, P. A., Öunap, K., Potter, N. L., Rubio-Gozalbo, M. E., Spencer, J. B., Timmers, I., . . . Bosch, A. M. (2016). International clinical guideline for the management of classical galactosemia: diagnosis, treatment, and follow-up. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 40(2), 171–176. <https://doi.org/10.1007/s10545-016-9990-5>
- Zhou, T., Daugherty, M., Grishin, N. V., Osterman, A. L., & Zhang, H. (2000). Structure and mechanism of homoserine kinase. *Structure*, 8(12), 1247–1257. [https://doi.org/10.1016/s0969-2126\(00\)00533-5](https://doi.org/10.1016/s0969-2126(00)00533-5)