Artículo original

Análisis molecular del gen GALT en pacientes cubanos con galactosemia clásica

Molecular Analysis of GALT Gene in Cuban Patients with Classical Galactosemia

Ixchel López-Reyes[1*] https://orcid.org/0000-0003-3387-2668

Antonio Alejandro Esperón-Álvarez[1] https://orcid.org/0000-0002-6806-4874

Lainet Merencio-Santos[1] https://orcid.org/0000-0002-1006-7108

Marileivis García-Heredia[1] https://orcid.org/0000-0002-1796-5824

Teresa Collazo-Mesa[1] https://orcid.org/0000-0002-3984-9189

[1]Centro Nacional de Genética Médica, Departamento de Biología Molecular. La Habana, Cuba.

[*]Autor para la correspondencia: ixchel@cngen.sld.cu

RESUMEN

Introducción: La galactosemia clásica es el trastorno genético del metabolismo de la galactosa más severo y de mayor prevalencia a nivel mundial. Es causada por mutaciones en el gen GALT, en el cual se han identificado más de 300 variantes alélicas. En Cuba no se han realizado estudios moleculares para identificar las mutaciones presentes en los pacientes.

Objetivo: Identificar variantes alélicas del gen GALT en pacientes cubanos con galactosemia clásica.

Métodos: Se aisló el ADN genómico de 29 pacientes por el método de precipitación salina. Se realizó la detección de seis mutaciones mediante la reacción en cadena de la polimerasa-digestión enzimática-electroforesis. La secuenciación del gen GALT se efectuó en diez muestras.

Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

Resultados: Por medio de la reacción en cadena de la polimerasa-digestión enzimática-electroforesis se detectaron las mutaciones p.Q188R, p.L195P, p.S135L, p.N314D y p.L218L. Además, se identificaron seis mutaciones mediante la secuenciación, tres en la región exónica: p.F171S, p.T292T y p.H315H; y tres en la intrónica: c.378-27G>C, c.507+62G>A y c.508-24G>A.

Conclusiones: Las mutaciones halladas evidencian la heterogeneidad genética alélica de la galactosemia clásica en la población cubana. Este conocimiento puede contribuir a perfeccionar el diagnóstico molecular prenatal y posnatal, el estudio de portadores, y el asesoramiento genético de pacientes y familiares.

Palabras clave: enfermedad por deficiencia de galactosa-1-fosfato uridiltransferasa; frecuencia alélica; heterogeneidad genética; mutación.

ABSTRACT

Introduction: Classical galactosemia is the most severe and prevalent genetic disorder of galactose metabolism worldwide. It is caused by mutations in GALT gene, in which more than 300 allelic variants have been identified. No molecular studies have been performed in Cuba to identify the mutations present in patients.

Objective: To identify allelic variants of GALT gene in Cuban patients with classical galactosemia.

Methods: Genomic DNA was isolated from 29 patients by the salt precipitation method. Six mutations were detected by polymerase chain reaction-enzymatic digestion-electrophoresis. GALT gene sequencing was performed on ten samples.

Results: The mutations p.Q188R, p.L195P, p.S135L, p.N314D and p.L218L were detected by polymerase chain reaction-enzymatic digestion-electrophoresis. In addition, six mutations were identified by sequencing, three in the exonic region: p.F171S, p.T292T and p.H315H; and three in the intronic region: c.378-27G>C, c.507+62G>A and c.508-24G>A.

Conclusions: The mutations found show the allelic genetic heterogeneity of classical galactosemia in the Cuban population. This knowledge can contribute to improving prenatal and postnatal molecular diagnosis, the study of carriers, and genetic counseling of patients and family members.

Keywords: galactose-1-phosphate uridyltransferase deficiency disease; allele frequency; genetic heterogeneity; mutation.

Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

Recibido: 06/07/2024

Aceptado: 30/07/2024

Introducción

La galactosemia clásica (OMIM 230400) es un trastorno genético del metabolismo de la galactosa, incluido dentro de las enfermedades genéticas raras, con un patrón de herencia autosómico recesivo. Entre los distintos tipos, la galactosemia clásica constituye la más severa y de mayor prevalencia a nivel mundial.

La mayoría de los individuos presenta la enfermedad en el período neonatal, después de ingerir leche materna o fórmulas que contengan lactosa, afectación multiorgánica potencialmente letal, debido a una insuficiencia hepática, renal o por la sepsis.

Los síntomas y signos característicos son: pérdida de peso corporal, rechazo de la alimentación, vómitos, diarreas, ictericia, letargia, hepatomegalia, cataratas, hipotonía, diátesis hemorrágica y fontanela anterior abultada.[1,2]

A pesar de cumplir con el tratamiento adecuado, es decir, una dieta con restricción de lactosa, los pacientes muestran complicaciones a largo plazo como trastornos cognitivos, deficiencia motora, insuficiencia ovárica primaria y disminución de la densidad ósea.[3,4,5,6]

La enfermedad es causada por mutaciones en el gen GALT (OMIM 606999: gen galactosa-1-fosfato uridiltransferasa), que codifica para la enzima galactosa-1-fosfato uridiltransferasa. Se han identificado más de 350 variantes alélicas de este gen, clasificadas, en su mayoría, como patogénicas.[7,8]

La mayor parte de estas mutaciones son raras, aunque existen algunas frecuentes en determinadas poblaciones. Las mutaciones p.Q188R, p.L195P y p.K285N, asociadas a un fenotipo severo, permiten identificar el 76,5 % de los alelos mutados y el 60,8 % del genotipo de pacientes españoles.[9]

En cambio, la mutación p.S135L, relacionada con un fenotipo menos severo, se encontró en el 48 % de los cromosomas de pacientes afroamericanos.[10]

En muchas poblaciones es frecuente la mutación p.N314D, que integra los alelos Duarte y Los Ángeles, asociados a los fenotipos leve y normal, respectivamente.[11,12,13]

Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

Según los datos del programa de tamizaje neonatal nacional, obtenidos entre los años 2005 y 2015, en Cuba la incidencia de las galactosemias es de 1:101 065.[14] La pesquisa neonatal se realiza mediante el sistema ultramicroanalítico (SUMA), que permite la cuantificación de galactosa total en sangre seca sobre papel de filtro. Los casos con resultados positivos se corroboran en el Departamento de Genética Bioquímica del Centro Nacional de Genética Médica –centro de referencia nacional–, donde, además, se determina la actividad enzimática de la galactosa-1-fosfato uridiltransferasa.

Aunque estas acciones resultan de vital importancia, no se han realizado estudios moleculares para identificar las mutaciones presentes en los pacientes cubanos, a pesar de que la variación alélica del gen GALT es importante en la definición del fenotipo clínico y bioquímico a corto y largo plazo.

La caracterización del gen en cada población permite establecer estrategias de diagnóstico molecular eficaces y garantizar el diagnóstico prenatal en las familias afectadas.

El objetivo de este estudio fue identificar variantes alélicas del gen GALT en pacientes cubanos con galactosemia clásica.

Métodos

Se realizó un estudio observacional, descriptivo y de corte transversal. El universo de estudio abarcó a los individuos con diagnóstico de galactosemia clásica atendidos en las consultas de asesoramiento genético de la Red Nacional de Genética Médica. La muestra estuvo conformada por 29 pacientes, no emparentados, que asistieron a las consultas entre 2008 e inicios de 2020.

Se utilizaron variables cualitativas nominales politómicas como la provincia de residencia, la variante alélica hallada y el genotipo de los pacientes.

Se excluyeron aquellos pacientes que no dieron su consentimiento informado ni tampoco sus representantes legales.

Las muestras de los pacientes se recibieron en el Departamento de Biología Molecular del Centro Nacional de Genética Médica. El ADN genómico fue aislado por el método de precipitación salina o por perlas magnéticas con el sistema automático QIAsymphony SP (Qiagen).

Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

Posteriormente, se realizó la detección de seis mutaciones (p.Q188R, p.L195P, p.K285N, p.S135L, p.N314D y p.L218L) mediante el método de reacción en cadena de la polimerasa (PCR)-digestión enzimática-electroforesis, de acuerdo con procedimientos descritos por otros autores,[10,15] obtenidos por comunicación personal de Laura Gort (Instituto de Bioquímica Clínica, Servicio de Bioquímica y Genética Molecular, Hospital Clínico, Barcelona, España, 2008).

De las 29 muestras, se escogieron diez para secuenciar bidireccionalmente el gen GALT por el método de Sanger. Se eligieron cuatro muestras en las que se había identificado alguna de las seis mutaciones estudiadas y otras seis que no tenían las mutaciones detectadas.

Cada muestra fue amplificada en cinco reacciones de PCR separadas, que abarcaron todos los exones y las regiones intrónicas adyacentes. Solo no incluyeron la región 5´UTR y la región profunda de los intrones 2, 6 y 10.

La secuencia de los oligonucleótidos empleados también se obtuvo por comunicación personal de Laura Gort.

En otras tres muestras solo se secuenciaron las regiones donde se detectaron mutaciones mediante PCR-digestión enzimática-electroforesis para confirmación.

La electroforesis de la reacción de secuenciación se ejecutó en el sistema de análisis genético GenomeLab GeXP (Beckman Coulter). Los datos obtenidos se procesaron con el programa informático del equipo y se compararon, mediante la herramienta de alineamiento de secuencias en línea BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*, por sus siglas en inglés), con el genoma humano de referencia, GRCh38.p12 (*GenBank*: GCF_000001405.38).

Las muestras en las que se detectaron variantes alélicas fueron nuevamente secuenciadas y analizadas para descartar falsos positivos. Se utilizó la estadística descriptiva para calcular el porcentaje de las variantes alélicas.

El consentimiento informado fue obtenido de los participantes o de sus representantes legales, en el caso de los menores de edad, y siguió el protocolo aprobado por el Comité de Ética del Centro Nacional de Genética Médica.

Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

Resultados

En los 29 pacientes estudiados se detectaron cinco de las seis mutaciones analizadas mediante PCR-digestión enzimática-electroforesis. Estas fueron: p.Q188R, p.L195P, p.S135L, p.N314D y p.L218L. La variante patogénica p.K285N no fue encontrada.

La mutación p.Q188R se halló en estado homocigótico en un paciente y, en estado heterocigótico, en tres, lo cual constituyó el 8,6 % (5/58) de los cromosomas examinados. Las variantes alélicas p.L195P, p.S135L y p.L218L se detectaron en el 1,7 % (1/58); mientras que la mutación p.N314D, presente en estado heterocigótico en cuatro pacientes, representó el 6,9 % (4/58).

La combinación de las mutaciones p.Q188R, p.L195P, p.S135L y las incluidas en los alelos Duarte (p.N314D) y Los Ángeles (p.N314D y p.L218L) se identificó en el 19 % (11/58). Además, se determinó el genotipo de un paciente, heterocigótico compuesto para las mutaciones p.Q188R y p.L195P (tabla 1).

Tabla 1 - Genotipos identificados en pacientes con diagnóstico de galactosemia clásica

Genotipo	Cantidad de pacientes	Provincia
p.Q188R/p.Q188R*	1	Holguín
p.Q188R/p.L195P**	1	Matanzas
p.Q188R/p.F171S, p.T292T, p.H315H	1	Camagüey
p.N314D, c.378-27G>C, c.507+62G>A, c.508-24G>A/ND	2	Granma
	1	La Habana
p.Q188R/ND*	1	Granma
p.N314D, p.L218L**/ND	1	Las Tunas
p.S135L**/ND	1	Pinar del Río

Leyenda: *muestra no secuenciada; **muestra en la que solo fue secuenciada la región donde se detectó una mutación mediante PCR-digestión enzimática-electroforesis; ND: no determinado.

Las mutaciones p.Q188R, p.L195P, p.S135L, p.N314D y p.L218L halladas con el método de PCR-digestión enzimática-electroforesis se confirmaron mediante la secuenciación de ADN.

Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

Identificación de variantes alélicas mediante secuenciación de ADN

Se identificaron seis mutaciones, tres en la región exónica (p.F171S, p.T292T, p.H315H) y tres en la intrónica (c.378-27G>C, c.507+62G>A, c.508-24G>A). La mutación de cambio de sentido p.F171S y las dos mutaciones silentes p.H315H y p.T292T se encontraron en estado heterocigótico compuesto en un paciente, en el cual, inicialmente, se había detectado la mutación p.Q188R por PCR-digestión enzimática-electroforesis.

En tres de los cuatro pacientes donde se identificó la mutación p.N314D, también se hallaron las variantes intrónicas c.378-27G>C, c.507+62G>A y c.508-24G>A en estado heterocigótico, lo cual corrobora la presencia del alelo Duarte en estos individuos.

En los seis pacientes restantes, de los diez en los cuales se secuenciaron los cinco fragmentos del gen GALT, no se identificó ningún cambio en las secuencias de nucleótidos analizadas.

Discusión

En estudios del gen GALT en pacientes de España, Portugal, Brasil, Argentina y Polonia, se señala una elevada heterogeneidad genética alélica.[9,16,17,18] La causa podrían ser los movimientos poblacionales ocurridos en esos países a lo largo de la historia, pues las poblaciones heterogéneas tienen una base genética más diversa.

En Cuba, debido a las múltiples inmigraciones que tuvieron lugar durante siglos, fundamentalmente de España y África Centro-Occidental, y al mestizaje subsiguiente, no sorprende que, a pesar de la baja tasa de detección lograda en este estudio, se identificaran 11 mutaciones en los pacientes, aunque varias de ellas forman parte de alelos complejos.

Todas las mutaciones encontradas aparecen en otras poblaciones, pero no habían sido descritas en la población cubana, dada la ausencia de estudios previos.

Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

Mutaciones y genotipos identificados

De acuerdo con los reportes de frecuencia a nivel mundial, se esperaba que la mutación p.Q188R, relacionada con un fenotipo severo, tuviera una mayor representación en los pacientes cubanos, pero solo estuvo presente en el 8,6 % de los cromosomas. Este valor resulta inferior al descrito en pacientes afroamericanos, brasileños y españoles, con frecuencias de 12-20 %, 22 % y 49 %, respectivamente.[9,10,16,19]

En Europa este constituye el alelo más común. Aunque su frecuencia varía entre las distintas poblaciones, los valores oscilan entre 45 y 93,6 %.[20] En Asia, en cambio, esta variante es rara. En estudios realizados en pacientes de Filipinas y Japón con galactosemia clásica, no ha sido hallada.[21,22]

La mutación p.N314D, presente en el 6,9 % de los cromosomas analizados, fue identificada en el 5,2 % de los alelos, junto con tres de los otros cuatro cambios de secuencia nucleotídica que conforman el alelo Duarte (c.378-27G>C, c.508-24G>A y c.507+62G>A).

La cuarta mutación (c.-119_-116delGTCA) debe estar presente en estos pacientes por el desequilibrio de ligamiento descrito entre estas cinco variantes. Sin embargo, no fue posible comprobarlo en este estudio debido a que los oligonucleótidos utilizados no abarcaban la región del promotor, donde se localizaba esta deleción.

La variante Los Ángeles, que incluye p.N314D y p.L218L, se detectó en el 1,7 % de los cromosomas. Estos resultados se acercan a lo descrito en hispanos, con una frecuencia de 4,5 % para la variante Duarte y 2,7 % para la variante Los Ángeles.[11]

En otro estudio, específicamente con pacientes brasileños, la frecuencia de la variante Duarte fue de un 8 %, y no se encontró la variante Los Ángeles.[16]

Al menos 15 mutaciones distintas a las que conforman los alelos Duarte y Los Ángeles han sido descritas en configuración *cis* con p.N314D.[23] Por esa razón, se recomienda la secuenciación del gen completo y no solo la detección de las variantes más comunes, ya que la frecuente mutación p.N314D puede estar en configuración *cis* con variantes raras, las cuales, entonces, quedan sin identificar e influyen significativamente en el fenotipo del paciente.

Otra mutación detectada con una menor frecuencia de la esperada fue p.L195P. Esta constituye la segunda variante más común en pacientes españoles (15,7%).[9] No obstante, solo se identificó en estado heterocigótico en uno de los pacientes.

Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

La mutación p.K285N, relacionada con un fenotipo severo, representa la tercera variante más común en España (12,7 %). A pesar de ello, no fue hallada en los pacientes cubanos. En pacientes mexicanos no se ha identificado, mientras que en pacientes brasileños tiene una frecuencia del 3 %.[16]

Las mutaciones p.S135L y p.F171S solo se han encontrado en africanos o en sus descendientes. En un estudio realizado en pacientes afroamericanos, las tres mutaciones más frecuentes fueron p.S135L (45 %), p.Q188R (20 %) y p.F171S (3,6 %).[19] En Brasil, en cambio, las frecuencias de p.S135L y p.F171S fueron de 12 y 1 %, respectivamente.[16]

Los valores descritos para p.S135L en estos grupos de pacientes resultan mayores que el obtenido en pacientes cubanos (1,7 %). Sin embargo, la mutación p.F171S fue identificada en un solo alelo, tanto en pacientes brasileños como cubanos.

En este estudio se logró determinar el genotipo de tres pacientes. Uno de ellos fue el clásico p.Q188R/p.Q188R y los restantes, heterocigóticos compuestos: p.L195P/p.Q188R y p.Q188R/p.F171S, p.T292T, p.H315H.

La combinación de las mutaciones p.L195P y p.Q188R ha sido relacionada con un peor pronóstico para el paciente. En un individuo con igual genotipo, la actividad de la enzima galactosa-1-fosfato uridiltransferasa no fue detectable y desarrolló complicaciones a largo plazo.[24]

El otro genotipo heterocigótico compuesto hallado (p.Q188R/p.F171S, p.T292T, p.H315H) está descrito en la base de datos de mutaciones del gen GALT (*ARUP GALT Database*), en un paciente de ancestros asiáticos y caucásicos.[7] En ese individuo no se detectó la actividad de la enzima galactosa-1-fosfato uridiltransferasa.

En la base de datos mencionada, las mutaciones silentes p.T292T y p.H315H están descritas en pacientes afroamericanos junto con p.S135L, en cuatro casos, y p.F171S, en uno. De acuerdo con la base de datos ClinVar,[8] las variantes silentes se consideran como probablemente benignas o benignas, así que no deben influir en el fenotipo del paciente.

En los individuos heterocigóticos compuestos p.Q188R/p.F171S, tampoco se ha detectado la actividad de la enzima galactosa-1-fosfato uridiltransferasa.[19]

Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

Cromosomas no caracterizados

En la mayor parte de los cromosomas analizados mediante secuenciación de ADN (15/20) no se identificaron mutaciones. Esto puede deberse a la presencia de mutaciones en la región del promotor, que disminuyan la eficiencia de la transcripción, o en la región no abarcada de los intrones 2, 6 y 10, que afecten el mecanismo de empalme, o a grandes reordenamientos.

Estos tipos de alteraciones ya han sido descritos en el gen GALT.[7,8] Por ejemplo, en la población grecochipriota, se encontró una nueva deleción de 8,5 kb en la mayoría de los alelos relacionados con la enfermedad (55 %),[25] mientras que la deleción de 5,5 kb, común en personas de origen judío Ashkenazi,[26] también ha sido identificada en pacientes mexicanos con una frecuencia de 5,5 %.[27]

Otra causa probable de la no identificación de la segunda variante alélica, como en el caso de los tres pacientes que tienen la variante Duarte, es la presencia de mutaciones en otros genes relacionados con las galactosemias, como GALK1, GALE o GALM.

Se han descrito pacientes con mutaciones en GALT y GALE, o en GALK1 y GALE.[28,29] Los investigadores sugieren que, ante la presencia de una baja actividad de la enzima galactosa-1-fosfato uridiltransferasa, se debería realizar un análisis molecular de todos los genes implicados en el metabolismo de la galactosa. Además, resulta altamente probable que, en los cromosomas donde no se encontró ninguna de las seis mutaciones mediante el método de PCR-digestión enzimática-electroforesis, y que no fueron secuenciados, existan variantes patogénicas en la región codificante.

Por último, para que el diagnóstico molecular sea costo-efectivo, es necesario que el protocolo del Programa de Detección Precoz de Galactosemia se cumpla como está establecido, ya que la correcta detección de la actividad de la galactosa-1-fosfato uridiltransferasa constituye un filtro imprescindible.

Las mutaciones halladas en los pacientes evidencian la heterogeneidad genética alélica de la galactosemia clásica en la población cubana. Este conocimiento puede contribuir a perfeccionar el diagnóstico molecular prenatal y postnatal, el estudio de portadores, y el asesoramiento genético de pacientes y familiares.

Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

Agradecimientos

Se agradece a los especialistas y al personal de apoyo de la Red Nacional de Genética Médica que intervinieron en la remisión y toma de las muestras incluidas en este estudio.

Referencias bibliográficas

1. Berry GT. Classic Galactosemia and Clinical Variant Galactosemia. En: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Ameniya A, editores. GeneReviews. Seattle: Universidad de Washington; 1993 [acceso 17/05/2021]. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1518/

2. Rossi-Espagnet MC, Sudhakar S, Fontana E, Longo D, Davison J, Petengill AL, *et al*. Neuroradiologic Phenotyping of Galactosemia: From the Neonatal Form to the Chronic Stage. Am J Neuroradiol. 2021;42(3):590-6. DOI: https://doi.org/10.3174/ajnr.A7016

3. Rubio-Gozalbo ME, Haskovic M, Bosch AM, Burnyte B, Coelho AI, Cassiman D, *et al*. The natural history of classic galactosemia: lessons from the GalNet registry. Orphanet J Rare Dis. 2019;14(1). DOI: https://doi.org/10.1186/s13023-019-1047-z

4. Welsink-Karssies MM, Ferdinandusse S, Geurtsen GJ, Hollak CEM, Huidekoper HH, Janssen MCH, *et al*. Deep phenotyping classical galactosemia: clinical outcomes and biochemical markers. Brain Commun. 2020;2(1). DOI: https://doi.org/10.1093/braincomms/fcaa006

5. Kuiper A, Grunewald S, Murphy E, Coenen MA, Eggink H, Zutt R, *et al*. Movement disorders and nonmotor neuropsychological symptoms in children and adults with classical galactosemia. J Inherit Metab Dis. 2019;42(3):451-8. DOI: https://doi.org/10.1002/jimd.12054

6. Korner M, Kalin S, Zweifel-Zehnder A, Fankhauser N, Nuoffer JM, Gautschi M. Deficits of facial emotion recognition and visual information processing in adult patients with classical galactosemia. Orphanet J Rare Dis. 2019;14(1). DOI: https://doi.org/10.1186/s13023-019-0999-3

7. Calderon FR, Phansalkar AR, Crockett DK, Miller M, Mao R. Mutation database for the galactose-1-phosphate uridyltransferase (GALT) gene. Hum Mutat. 2007;28(10):939-43. DOI: https://doi.org/10.1002/humu.20544

Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

8. Landrum MJ, Kattman BL. ClinVar at five years: Delivering on the promise. Hum Mutat. 2018;39(11):1623-30. DOI: https://doi.org/10.1002/humu.23641

9. Gort L, Boleda MD, Tyfield L, Vilarinho L, Rivera I, Cardoso ML, *et al*. Mutational spectrum of classical galactosaemia in Spain and Portugal. J Inherit Metab Dis. 2006;29(6):739-42. DOI: https://doi.org/10.1007/s10545-006-0356-2

10. Lai K, Langley SD, Singh RH, Dembure PP, Hjelm LN, Elsas LJ. A prevalent mutation for galactosemia among black Americans. J Pediatr. 1996;128(1):89-95. DOI: https://doi.org/10.1016/s0022-3476(96)70432-8

11. Suzuki M, West C, Beutler E. Large-scale molecular screening for galactosemia alleles in a pan-ethnic population. Hum Genet. 2001;109:210-5. DOI: https://doi.org/10.1007/s004390100552

12. Fridovich-Keil JL, Carlock G, Coles CD, Lynch ME, Millians MN, Potter NL, *et al*. Developmental outcomes of children with Duarte galactosemia: exploring the bases of an apparent contradiction in the literature. Genet Med. 2019;21(12):2683-5. DOI: https://doi.org/10.1038/s41436-019-0567-1

13. Carlock G, Fischer ST, Lynch ME, Potter NL, Coles CD, Epstein MP, *et al*. Developmental Outcomes in Duarte Galactosemia. Pediatrics. 2019;143(1). DOI: https://doi.org/10.1542/peds.2018-2516

14. González-Reyes EC, Castells EM, Frómeta A, Arteaga AL, Río LD, Tejeda Y, *et al*. SUMA Technology and Newborn Screening Tests for Inherited Metabolic Diseases in Cuba: An Overview of the First 30 Years. Journal of Inborn Errors of Metabolism and Screening. 2016;4:1-9. DOI: https://doi.org/10.1177/2326409816661356

15. Kozak L, Francova H, Fajkusova L, Pijackova A, Macku J, Stastna S, *et al*. Mutation analysis of the GALT gene in Czech and Slovak galactosemia populations: identification of six novel mutations, including a stop codon mutation (X380R). Hum Mutat. 2000;15(2). DOI: https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1004(200002)15:2<206::AID-HUMU13>3.0.CO;2-O

16. Garcia DF, Camelo JS, Molfetta GA, Turcato M, Souza CF, Porta G, *et al*. Clinical profile and molecular characterization of Galactosemia in Brazil: identification of seven novel mutations. BMC Med Genet. 2016;17(1). DOI: https://doi.org/10.1186/s12881-016-0300-8

17. Crespo C, Eiroa H, Otegui MI, Bonetto MC, Chertkoff L, Gravina LP. Molecular analysis of GALT gene in Argentinian population: Correlation with enzyme activity and characterization of a novel Duarte-like allele. Mol Genet Metab Rep. 2020;25. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ymgmr.2020.100695

(cc) BY-NC Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

18. Jezela-Stanek A, Bauer A, Wertheim-Tysarowska K, Bal J, Rygiel AM, Sykut-Cegielska J. The genetic basis of classical galactosaemia in Polish patients. Orphanet J Rare Dis. 2021;16(1). DOI: https://doi.org/10.1186/s13023-021-01869-3

19. Wang BB, Xu YK, Ng WG, Wong LJ. Molecular and biochemical basis of galactosemia. Mol Genet Metab. 1998;63(4):263-9. DOI: https://doi.org/10.1006/mgme.1998.2678

20. Ozgul RK, Guzel-Ozanturk A, Dundar H, Yucel-Yilmaz D, Coskun T, Sivri S, *et al*. Galactosemia in the Turkish population with a high frequency of Q188R mutation and distribution of Duarte-1 and Duarte-2 variations. J Hum Genet. 2013;58(10):675-8. DOI: https://doi.org/10.1038/jhg.2013.76

21. Hirokawa H, Okano Y, Asada M, Fujimoto A, Suyama I, Isshiki G. Molecular basis for phenotypic heterogeneity in galactosaemia: prediction of clinical phenotype from genotype in Japanese patients. Eur J Hum Genet. 1999;7(7):757-64. DOI: https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5200368

22. Estrada SC, Canson DM, Silao CL. Mutational analysis of the GALT gene in Filipino patients. Kobe J Med Sci. 2013 [acceso 12/09/2019];59(3). Disponible en: https://www.med.kobe-u.ac.jp/journal/contents/59/E106.pdf

23. Ohlsson A, Hunt M, Wedell A, von Dobeln U. Heterogeneity of disease-causing variants in the Swedish galactosaemia population: Identification of 16 novel GALT variants. J Inherit Metab Dis. 2019;42(5). DOI: https://doi.org/10.1002/jimd.12136

24. Yuzyuk T, Viau K, Andrews A, Pasquali M, Longo N. Biochemical changes and clinical outcomes in 34 patients with classic galactosemia. J Inherit Metab Dis. 2018;19(10):18-136. DOI: https://doi.org/10.1007/s10545-018-0136-9

25. Papachristoforou R, Petrou PP, Sawyer H, Williams M, Drousiotou A. Classic galactosaemia in the Greek Cypriot population: An epidemiological and molecular study. Ann Hum Genet. 2019;83(5);291-8. DOI: https://doi.org/10.1111/ahg.12318

26. Coffee B, Hjelm LN, DeLorenzo A, Courtney EM, Yu C, Muralidharan K. Characterization of an unusual deletion of the galactose-1-phosphate uridyl transferase (GALT) gene. Genet Med. 2006;8(10):635-40. DOI: https://doi.org/10.109701.gim.0000237720.78475.fb

27. Gonzalez A, Velazquez J, Alcantara MA, Vela M, Hernandez N. Phenotype-Genotype Discrepancy Due to a 5.5-kb Deletion in the GALT Gene. JIMD Rep. 2012;2:1-5. DOI: https://doi.org/10.1007/8904_2011_30

(cc) BY-NC Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

28. Schulpis KH, Thodi G, Chatzidaki M, Iakovou K, Molou E, Dotsikas Y, *et al*. Rare cases of galactose metabolic disorders: identification of more than two mutations per patient. J Pediatr Endocrinol Metab. 2017;30(10):1119-20. DOI: https://doi.org/10.1515/jpem-2017-0263

29. Schulpis KH, Thodi G, Iakovou K, Dotsikas Y, Molou E, Loukas YL. Identification of five mutations in a patient with galactose metabolic disorders. J Pediatr Endocrinol Metab. 2018;31(2):221-2. DOI: https://doi.org/10.1515/jpem-2017-0438

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Contribuciones de los autores

Conceptualización: Ixchel López-Reyes.

Curación de datos: Ixchel López-Reyes, Lainet Merencio-Santos y Marileivis García-Heredia.

Análisis formal: Ixchel López-Reyes, Antonio Alejandro Esperón-Álvarez, Lainet Merencio-Santos y Marileivis García-Heredia.

Redacción-borrador original: Ixchel López-Reyes, Antonio Alejandro Esperón-Álvarez y Teresa Collazo-Mesa.

Redacción-revisión y edición: Ixchel López-Reyes, Antonio Alejandro Esperón-Álvarez, Lainet Merencio-Santos, Marileivis García-Heredia y Teresa Collazo-Mesa.

Esta obra está bajo una licencia: https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES