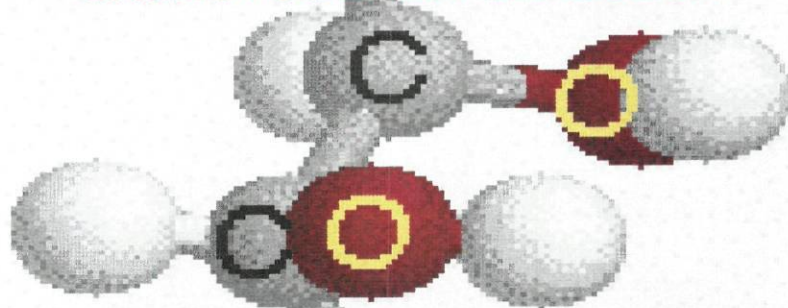


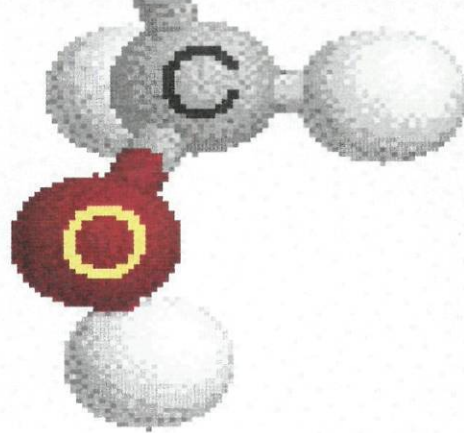
**FACULDADE DE
CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO E ALIMENTAÇÃO
DA UNIVERSIDADE DO PORTO**



" GALACTOSEMIA CLÁSSICA "



Júlio César Leite da Fonseca Rocha



1999/2000

ÍNDICE

1. Introdução	
2. Os Hidratos de Carbono	
2.1. Digestão e absorção dos Hidratos de Carbono	5
2.2. Metabolismo da Galactose	8
2.3. Alterações ao Metabolismo da Galactose	10
2.3.1. Défice em Galactocínase	11
2.3.2. Défice em Galactose-1-P Uridiltransferase	12
2.3.3. Défice em UDP-Galactose 4'-epimerase	12
3. Galactosemia Clássica	14
3.1. Genética	15
3.2. Alterações metabólicas	17
3.3. Fisiopatologia	20
3.4. Complicações	24
3.4.1. S.N.C. e nervo	24
3.4.2. Olho	26
3.4.3. Fígado	27
3.4.4. Rim	29
3.4.5. Esqueleto	29
3.4.6. Gónadas	29
3.4.7. Sistema Cardiovascular	31
3.5. Apresentação clínica	32
3.6. Diagnóstico	33
3.7. Tratamento	36
3.7.1. Tratamento dietético	37
3.7.1.1. Tratamento dietético no recém nascido	39



3.7.1.2.	Tratamento dietético no adulto	40
3.7.1.3.	Tratamento dietético durante a gravidez	41
3.7.2.	Outros tratamentos	41
3.7.3.	Tratamento no défice parcial da enzima	42
3.7.4.	Avaliação do tratamento	43
3.8.	Prognóstico	44
4.	Conclusão	45
Bibliografia		



1. INTRODUÇÃO

A máquina humana, de todas as existentes à superfície da Terra, é talvez a mais complexa e a mais difícil de entender. O seu estudo tem suscitado o interesse do mundo. Senão vejamos: tudo o que o homem constrói tem como finalidade satisfazer uma determinada necessidade sua.

Todavia, a necessidade primária do homem, baseia-se tão simplesmente na manutenção da sua própria vida. Para tal, a maquinaria interna humana terá de funcionar bem. O problema surge quando assim não acontece. O pior ocorre quando o próprio homem, não consegue resolver esse mesmo problema.

Com muitos erros inatos do metabolismo, acontece isso mesmo. O homem detecta-os, embora não os consiga resolver em pleno. O metabolismo do homem como garante da perfeita utilização dos recursos energéticos de que dispõe, permite o bem estar interno, para que o externo seja, então possível.

Na Galactosemia Clássica, o metabolismo interno do homem não funciona em pleno. Os possuidores desta metabolopatia podem ver comprometido o seu desenvolvimento.

Aqui, como noutras situações deste tipo, a nutrição tem uma palavra a dizer!

2. OS HIDRATOS DE CARBONO

Os hidratos de carbono são compostos aldeído ou cetona aos quais se ligam grupos hidróxil. A sua fórmula empírica é $(\text{CH}_2\text{O})_n$ ⁽¹⁾.

Constituem, juntamente com as proteínas, os ácidos nucleicos e os lípidos, uma das quatro maiores classes de biomoléculas. São constituintes da maioria da matéria orgânica existente à superfície da Terra, possuindo múltiplos papeis nas diversas formas de vida⁽¹⁾.

Servem como reservas de energia, combustíveis e intermediários no metabolismo. O amido nas plantas e o glicogénio nos animais são polissacarídeos que podem ser rapidamente mobilizados para originar glicose, essencial para a produção de energia. O ATP, como forma de energia universal, é um derivado de um hidrato de carbono fosforilado, bem como diversas coenzimas ⁽¹⁾.

Açúcares como a ribose e a desoxiribose fazem parte da estrutura dos constituintes do RNA e DNA, onde a sua própria conformação desempenha um papel importante na armazenagem e na expressão da informação genética ⁽¹⁾.

Há polissacarídeos que constituem elementos estruturais das paredes celulares de bactérias e plantas e dos exoesqueletos dos artrópodes. A celulose, como maior constituinte das paredes celulares nas plantas, é dos compostos orgânicos mais abundantes na biosfera ⁽¹⁾.

Os hidratos de carbono estão ligados a muitas proteínas e lípidos, entrando na constituição das proteínas transmembranares, entre outras. Muitos processos de reconhecimento entre as células têm como intermediários unidades de hidratos de carbono, na sua superfície ⁽¹⁾.

Os hidratos de carbono, presentes nos alimentos, classificam-se em três grupos – *monossacarídeos*, *oligosacarídeos* e *polissacarídeos* – de acordo com o seu grau de polimerização, o qual constitui o factor preponderante na determinação das suas propriedades físicas, químicas e fisiológicas ⁽²⁾.

Os *monossacarídeos* são os hidratos de carbono mais simples, constituindo unidades que, quando combinadas, formam polímeros. Existem duas séries de *monossacarídeos* : a do **gliceraldeído**, apresentando as formas D e L que servem de base para a classificação da estrutura dos monossacarídeos, e a série da **dihidroxiacetona** ^(1,2). Deste modo, teremos aldoses e cetoses, conforme estejamos na presença de um monossacarídeo que apresente um grupo aldeído ou um grupo

cetona, respectivamente ⁽¹⁾. Relativamente ao número de átomos de carbono, teremos tetroses, pentoses e hexoses, conforme estejamos na presença de uma molécula com quatro, cinco ou seis átomos, respectivamente ^(1,2,3). Como exemplo de duas aldohexoses, temos a glicose e a galactose contendo o grupo aldeído no carbono 1 (C1) ⁽³⁾. Estes dois monossacarídeos apresentam poder redutor, uma vez que o seu grupo hidróxil tem capacidade para reduzir metais como o cobre e o ferro ^(1,3). São então designados açúcares redutores ^(1,3). Comparativamente, apresenta-se a frutose como uma ceto-hexose, porque se verifica a presença de um grupo cetona no carbono 2 (C2) ⁽³⁾. As diferentes estruturas químicas dos monossacarídeos irão ditar o seu comportamento químico, o seu sabor, poder edulcorante e como tal, a sua distribuição pelas fontes alimentares bem como a eficácia a nível da absorção intestinal ⁽³⁾. Existem também compostos derivados dos monossacarídeos que constituem importantes componentes de polissacarídeos ou são usados como ingredientes de géneros alimentícios. São exemplo: os ácidos urónicos, formados pela oxidação de grupos álcool; os compostos resultantes da redução a metil do grupo álcool, como é o caso da desoxigalactose; os açúcares álcool que constituem o produto final da redução do grupo aldeído ou cetona de um monossacarídeo ⁽²⁾.

Os *oligossacarídeos*, segundo o sistema da União Internacional de Química Pura e Aplicada, são o resultado da junção de unidades de monossacarídeos até um máximo de nove ⁽²⁾. Destes, destacam-se a sacarose, composta por glicose e frutose, sem poder redutor uma vez que os monossacarídeos estão ligados através dos seus grupos hemiacetal ⁽²⁾. O grupo hemiacetal é o resultado da reacção entre um grupo aldeído e um grupo álcool ⁽¹⁾. Por outro lado, temos dois dissacarídeos, que apresentam poder redutor ⁽²⁾. São eles a lactose originada pela junção de uma molécula de glicose e uma outra de galactose e a maltose constituindo um dissacarídeo de glicose ⁽²⁾. A rafinose, um trissacarídeo formado por galactose, glicose e frutose, e a estaquiiose, um

tetrassacarídeo formado por duas moléculas de galactose, uma de glicose e uma de frutose, são bons exemplos de oligossacarídeos que escapam à eficácia dos processos digestivos, sendo principalmente substratos para fermentações no intestino grosso⁽³⁾.

Os *polissacarídeos* são, segundo o sistema da União Internacional de Química Pura e Aplicada, o resultado da polimerização de mais de nove resíduos de monossacarídeos (ou ácidos urónicos)⁽²⁾. É conhecida uma vasta gama de polissacarídeos que diferem, entre si, pelo tipo de monossacarídeos que os constituem, pela conformação e tipo de ligações efectuadas entre si, pela extensão da molécula e grau de ramificação⁽²⁾. Como exemplo temos o amido, exclusivamente de origem vegetal. Com a produção de glicose, resultante do processo da fotossíntese, a necessidade inata de armazená-la, é concretizada pela produção de amido, constituindo este uma reserva⁽³⁾. Assim, teremos dois tipos fundamentais: a *amilose*, de dimensões mais pequenas e com menor grau de ramificação e a *amilopectina*, de maiores dimensões e apresentando maior número de ramificações. Na cadeia linear, entre os resíduos de glicose, temos ligações glicosídicas α -1,4, enquanto que nos locais de ramificação são α -1,6^(1,3). Ainda nas plantas, temos a celulose como um dos compostos orgânicos mais abundantes na biosfera⁽¹⁾. Esta constitui um polímero de glicose não ramificado com ligações glicosídicas β -1,4 entre os seus resíduos⁽¹⁾.

Nos animais, os hidratos de carbono ingeridos em excesso, comparativamente às necessidades energéticas do momento, são armazenados sob a forma de um polissacarídeo – o glicogénio⁽³⁾. O glicogénio é um polímero de glicose ramificado semelhante à amilopectina, embora as suas ramificações sejam mais pequenas e de menores dimensões⁽³⁾.

2.1. DIGESTÃO E ABSORÇÃO DOS HIDRATOS DE CARBONO

Como já foi referido antes, os hidratos de carbono apresentam graus de complexidade diferentes. Assim, nos alimentos, eles vão aparecer-nos sob a forma de polissacarídeos complexos, oligossacarídeos e monossacarídeos, com necessidades diferentes no que respeita a processos digestivos.

Quanto aos polissacarídeos, o glicogénio, exclusivamente de origem animal, não tem grande significado na alimentação pois, durante o processo de abate há conversão a lactato, integrando o processo de maturação da carne. Por outro lado, o amido, derivando dos cereais e das plantas, corresponde, em média, a cerca de metade da ingestão em hidratos de carbono digeríveis, sendo, como tal, o polissacarídeo com maior importância na alimentação humana ⁽⁴⁾. A celulose e outros polissacarídeos encontrados nos vegetais, vulgarmente designados por fibras, não são digeridos no intestino delgado sofrendo a acção das bactérias fermentadoras a nível do intestino grosso ^(4,5).

Outras fontes de hidratos de carbono são o leite, que contribui com o dissacarídeo lactose, as células de frutos e vegetais que fornecem frutose, glicose e sacarose entre outros oligossacarídeos como a rafinose e a estaquiose ⁽⁴⁾.

A maioria dos hidratos de carbono encontra-se, nos alimentos, sob a forma de macromoléculas, algumas destas insolúveis, o que inviabiliza a sua absorção directa a nível intestinal ⁽⁶⁾. Deste modo, o processo digestivo visará obter substâncias mais simples e com maior grau de solubilidade que facilitam o processo de absorção ⁽⁶⁾. A digestão dos hidratos de carbono inicia-se na boca com a acção da amílase salivar, uma endoenzima com afinidade para as ligações α -1,4 ^(4,5). A acção desta enzima é influenciada pelo tempo de contacto bem como da proximidade com o substrato, sendo para tal aconselhada uma boa mastigação ^(4,5). Seguidamente, a nível do estômago, a amílase salivar é inibida devido ao pH ácido que lhe é desfavorável,

embora, dependendo da constituição da refeição, esta possa ter ainda alguma actividade ^(4,5,7). Não é possível quantificar o papel que a amílase salivar possa ter em todo o processo de digestão dos amidos ⁽⁷⁾. A digestão do amido é depois retomada a nível do intestino delgado, através da acção da amílase pancreática ^(4,5). Os produtos da digestão pelas amílase salivar e pancreática são oligossacarídeos, nomeadamente maltoses e maltotrioses e pequenas cadeias ramificadas de monómeros de glicose ^(4,5). Estes produtos, juntamente com outros dissacarídeos ingeridos, como a sacarose, lactose ou mesmo a maltose, são posteriormente digeridos para que possam ser absorvidos ^(4,5). Esta nova acção enzimática é da responsabilidade das dissacaridasas ou hidrolases ^(4,5). Estas enzimas existem, principalmente, nas microvilosidades do duodeno e no jejuno, nomeadamente na membrana da parte apical dos seus enterócitos ^(4,5). Como exemplos temos a lactase, que desdobra a lactose em galactose e glicose, a sacarase, que digere a sacarose em frutose e glicose, entre outras como a maltase, a isomaltase, a trealase e a sacarase-isomaltase ⁽⁴⁾. Todavia, existem amidos resistentes e fibras alimentares que escapam aos processos digestivos normais, seguindo para o cólon onde funcionam como substratos bacterianos. A sua fermentação pelas bactérias resulta na formação de ácidos gordos de cadeia curta como os ácidos acético, butírico e propiónico, dióxido de carbono, hidrogénio e metano ⁽⁷⁾.

Os monossacarídeos glicose, galactose e frutose, resultantes da digestão dos hidratos de carbono, atravessam então a mucosa das células do epitélio intestinal e, através dos capilares das microvilosidades, entram na corrente sanguínea ⁽⁶⁾. Embora a glicose e a galactose pudessem atravessar a mucosa intestinal por um processo de difusão de acordo com o gradiente, a lentidão do processo é de tal ordem que a água circularia em sentido inverso anulando o gradiente de concentração ⁽⁸⁾. Os dois monossacarídeos são então absorvidos no epitélio da mucosa intestinal e no tubo

proximal do rim, por um processo de transporte activo, através de um transportador proteico dependente do sódio (Na^+) ^(4,6,8). É nesta base que assenta o princípio dos líquidos ricos em glicose e sódio para a rehidratação de atletas ou de crianças com diarreia ⁽⁶⁾. O gene que codifica a informação para a síntese do referido transportador encontra-se no cromossoma 22, tendo já sido demonstrada a mutação responsável pelo défice do transportador que causa um síndrome de malabsorção de glicose e galactose ^(4,8). O processo de transporte activo acarreta gastos energéticos. Estes gastos são suportados pela energia gerada por uma bomba $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}_{\text{ase}}$ existente na membrana basolateral do enterócito ⁽⁴⁾. Deste modo, a absorção destes dois monossacarídeos é conseguida pelo facto da referida bomba causar a diminuição da concentração intracelular de sódio ⁽⁴⁾. Posteriormente, o sódio entra pela parte apical da célula arrastando consigo uma molécula de glicose ou de galactose na proporção molar de 1:1 ⁽⁴⁾. Por outro lado, a frutose é absorvida mais lentamente e por um processo de difusão facilitada, eventualmente também algo dependente do Na^+ ⁽⁶⁾. Todavia, o transporte não se efectua contra um gradiente de concentração, embora a participação de um transportador permita taxas de absorção superiores às esperadas com uma difusão simples ⁽⁴⁾.

Quando os monossacarídeos atingem a corrente sanguínea, através dos capilares das microvilosidades, são encaminhados até ao fígado pelo sistema porta ⁽⁶⁾. Pode também acontecer que algumas moléculas de monossacarídeos atravessem a membrana basolateral da célula intestinal, atingindo o espaço intersticial, passando, só depois, à circulação portal por um processo de difusão ⁽⁴⁾. A glicose é então transportada para os tecidos, embora alguma seja armazenada sob a forma de glicogénio hepático e muscular ⁽⁶⁾. Relativamente à frutose, é possível que alguma quantidade deste monossacarídeo seja convertida em glicose na célula intestinal, antes de entrar na corrente sanguínea ⁽⁶⁾. Porém, tal como acontece com a galactose, a

maioria é transportada para o fígado para que seja convertida em glicose e deste modo possa ser utilizada a nível celular ⁽⁶⁾.

2.2. METABOLISMO DA GALACTOSE

No homem, a glicose constitui a energia primária usada pela maioria das células ⁽²⁾. Só o cérebro, pode utilizar cerca de 80 a 100g de glicose por dia, embora estes valores variem de acordo com a frequência e composição das refeições ⁽²⁾. À medida que nos afastamos da última refeição a supremacia da glicose diminui dado que começam a ser utilizados ácidos gordos, como fonte energética ⁽²⁾. Um aspecto fundamental no metabolismo dos hidratos de carbono, diz respeito ao facto da energia provir da dieta de modo intermitente, o que obriga o organismo a fazer reservas, principalmente de hidratos de carbono e de lípidos ⁽²⁾. Todavia, mesmo para a completa utilização das reservas de lípidos, como fonte de energia, são necessários hidratos de carbono ⁽²⁾.

Parece então, por demais evidente, a importância do metabolismo dos hidratos de carbono na fisiologia do homem ⁽²⁾. Como tal, a digestão dos hidratos dos carbono provenientes da alimentação, tem que possibilitar que estes sejam absorvidos e posteriormente utilizados. Os produtos finais dessa digestão são quase inteiramente compostos por cerca de 80% de glicose, a que se seguem por ordem de importância a frutose e a galactose ⁽²⁾. Após a sua absorção, muita da frutose e quase toda a galactose, tendem a ser rapidamente convertidas em glicose no fígado ⁽²⁾.

O fígado constitui o órgão onde se metaboliza a maior quantidade de galactose ⁽²⁾. A apreciação da função hepática pode ser feita através da avaliação da eficácia de remoção da galactose do sangue, após uma administração intravenosa ⁽²⁾. A conversão da galactose em glicose é de tal modo eficaz que, cerca de metade da galactose fornecida a um indivíduo, encontrar-se-á já convertida em glicose, após trinta minutos

decorridos ⁽²⁾. A lactose constitui a maior fonte de galactose para o homem, estando presente em 7% no leite humano e em 5% no leite de vaca ⁽⁹⁾. Tal facto parece ir de encontro às necessidades fisiológicas de manutenção dos níveis séricos dentro dos limites normais, já que, a mesma quantidade de galactose, quando em presença de glicose, produz uma galactosemia menos marcada do que na ausência desta ⁽²⁾.

A galactose tem de ser convertida em glicose-6-P, para que posteriormente possa ser utilizada na síntese do glicogénio ⁽⁹⁾. Pode, igualmente, ser oxidada no sentido de formar piruvato ou acetil-CoA, para produção de energia ou síntese de ácidos gordos ⁽⁹⁾.

A conversão da galactose em glicose-6-P ocorre em quatro etapas ⁽¹⁰⁾.

A primeira reacção da via metabólica de interconversão da galactose em glicose (via metabólica de Leloir) consiste na fosforilação da galactose a galactose-1-P pela enzima galactocínase (GALK) ^(9,10,11,12,13,14,15). Nesta reacção há consumo de energia sob a forma de ATP ^(8,9). O equilíbrio da reacção é no sentido da fosforilação da galactose ⁽⁸⁾. Todavia, esta é uma reacção reversível ⁽⁸⁾. Seguidamente, a galactose-1-P produzida reage com UDP-glicose e, por aquisição do grupo UDP desta, origina UDP-galactose e glicose-1-P ^(8,9,10). A reacção é catalisada pela enzima galactose-1-P uridiltransferase (GALT) ^(8,9,10,12,15). A glicose-1-P produzida pode ser convertida posteriormente em glicose ⁽¹¹⁾. Um fígado normal consegue converter rapidamente cerca de 80% da galactose em glicose ⁽¹¹⁾. Uma vez que a galactose não constitui um substrato da hexocínase, a enzima UDP-galactose 4'-epimerase (GALE) inverte a configuração do grupo hidróxil do carbono 4 (C4) da UDP-galactose e converte-a em UDP-glicose ^(8,9,12,15). Desta forma, a UDP-glicose é regenerada, uma vez que tinha participado na reacção anterior, que conduzia à formação de glicose-1-P ^(8,10,15). Ao ser regenerada, a UDP-glicose, intervém novamente na via metabólica, permitindo que a galactose que entra no ciclo seja convertida a glicose-1-P ^(8,10,15). Parte desta UDP-

glicose, pode também participar directamente na síntese do glicogénio, uma vez que constitui um precursor dessa síntese ^(8,10,15). A enzima UDP-galactose 4'-epimerase catalisa igualmente a reacção no sentido inverso ^(8,10,15). Esta possibilidade reveste-se de muita importância quando não há galactose proveniente da alimentação ^(8,10,15). Nestas circunstâncias, a UDP-glicose será epimerizada a UDP-galactose que é essencial para a síntese de glicolípidos e glicoproteínas ^(8,10,15). Posteriormente, a degradação destas moléculas complexas de lípidos e glicoproteínas, pode originar galactose livre ^(8,10,15). O equilíbrio entre a UDP-glicose e a UDP-galactose é mantido, em quase todas as células, pela GALE ⁽¹⁵⁾. A UDP-galactose formada pode sofrer uma clivagem pirofosforilítica, constituindo assim uma fonte celular de galactose-1-P ⁽¹⁵⁾. Posteriormente, esta galactose-1-P pode ainda ser convertida em galactose por uma fosfatase ⁽¹⁵⁾. Como tal, mesmo na ausência de galactose vinda do exterior, as vias metabólicas apresentam a reversibilidade suficiente para disponibilizar galactose bem como todos os seus metabolitos ⁽¹⁵⁾.

Na impossibilidade da galactose ser metabolizada segundo as vias apresentadas anteriormente, devido a deficiências enzimáticas, esta pode ainda seguir duas vias alternativas ⁽¹⁵⁾. Uma delas é a da catalisação pela enzima aldose redutase ⁽¹⁵⁾. Nesta reacção, a galactose é reduzida produzindo-se galactitol ⁽¹⁵⁾. A outra possibilidade diz respeito à oxidação de que a galactose pode ser alvo por acção de uma oxidase, produzindo-se galactonato ou ácido galactónico ⁽¹⁵⁾. Este pode ainda ser posteriormente metabolizado a CO₂ e xilulose ⁽¹⁵⁾.

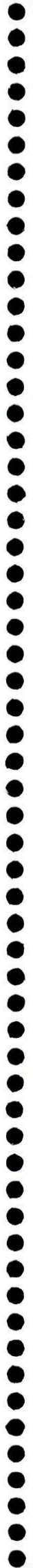
2.3. ALTERAÇÕES AO METABOLISMO DA GALACTOSE

Até à data são conhecidos três defeitos genéticos que afectam o metabolismo da galactose ^(12,15). As alterações genéticas são expressas, a nível celular, pelo défice de três enzimas fundamentais para o normal funcionamento da única via metabólica de

61060



400282



conversão da galactose em glicose ^(12,15). Os três erros inatos do metabolismo da galactose apresentam um modo de transmissão autossómico recessivo ^(12,15).

2.3.1. DÉFICE EM GALACTOCÍNASE (GALK)

A GALK constitui a primeira enzima envolvida no metabolismo da galactose. A sua deficiência foi descrita pela primeira vez em 1965 num homem de 44 anos que tinha cataratas e a quem foi detectada galactosúria após ingestão de leite ^(13,15).

Os indivíduos com deficiência de GALK, não conseguem fosforilar a galactose. Desta forma, não se produzindo galactose-1-P, praticamente toda a galactose ingerida terá de ser excretada sob a forma de produtos resultantes das vias metabólicas alternativas, ou seja, galactitol e galactonato, com o primeiro a constituir a maior parte.

As cataratas são a única manifestação constante da doença, embora já tenham sido descritos pseudotumores cerebrais em alguns doentes ^(12,15). As cataratas resultam da acumulação de galactitol a nível ocular, o que determina alteração da pressão osmótica e conduz à desnaturação das proteínas ^(12,15). Contrariamente à GC, que será abordada mais adiante, no período neonatal verifica-se ausência de sintomatologia aguda, fundamentalmente caracterizada pela inanição, disfunção gastrointestinal, bem como alterações a nível hepático, renal e cerebral ^(12,15). Posto isto, qualquer criança que apresente cataratas, deve ser alvo de suspeita de deficiência em galactocínase ^(12,15). O diagnóstico da doença é efectuado através da pesquisa de substâncias redutoras na urina ^(12,15). Posteriormente, este é confirmado por doseamento da actividade enzimática no sangue, nos eritrócitos, no fígado ou nos fibroblastos ⁽¹²⁾. A incidência da doença é de cerca de 1:150000, mas apenas cerca de 1:40000 diz respeito a indivíduos homozigóticos ^(12,15). Foram identificados dois genes responsáveis pela codificação da GALK ⁽¹²⁾. Um destes genes, o GK1 encontra-se localizado no cromossoma 17 enquanto que o outro gene, o GK2 faz parte do cromossoma 15 ⁽¹²⁾.

Para já, ainda só foram descobertas três mutações responsáveis pela doença, todas elas no gene GK1 ⁽¹²⁾. Está documentado que os heterozigóticos apresentam uma actividade enzimática intermédia. A sua predisposição para a formação de cataratas ainda não se encontra totalmente esclarecida. Assim, e para já, recomenda-se o seguimento do tratamento dietético como medida profiláctica ^(12,15).

No que respeita ao tratamento, este consiste na eliminação da galactose da dieta ^(12,14,15). Quando o diagnóstico é efectuado rapidamente e o tratamento se inicia de imediato, isto é, nas duas a três primeiras semanas de vida as cataratas podem reverter ^(12,15). De outro modo, a sua remoção só é conseguida cirurgicamente ^(12,15).

2.3.2. DÉFICE EM GALACTOSE-1-P URIDILTRANSFERASE (GALT)

A deficiência em GALT é responsável pela doença de pior prognóstico dentro das doenças hereditárias do metabolismo da galactose. É vulgarmente referida como Galactosemia Clássica. Não vai ser descrita agora, uma vez que será alvo de apresentação detalhada mais adiante.

2.3.3. DÉFICE EM UDP-GALACTOSE 4'-EPIMERASE (GALE)

A deficiência em GALE foi primeiramente descrita em 1972 ⁽¹⁶⁾. O gene que codifica a enzima encontra-se no cromossoma 1 ⁽¹²⁾. A sua deficiência existe em duas formas ^(12,15,17). Ambas causam acumulação de UDP-galactose após a ingestão de galactose proveniente da dieta ^(12,15,17). São característicos, igualmente, níveis aumentados de galactose-1-P devido à sua acumulação ^(12,15,17). Os níveis de GALK e GALT são normais ^(12,15,17).

A forma benigna é a mais frequente ^(12,15,17). Nesta, a deficiência da GALE não se exprime de modo sistémico ^(12,15,17). A nível das células do sangue, nomeadamente nos eritrócitos e leucócitos, é nítida uma ausência total de actividade enzimática ^(12,15,17). Por outro lado, em cultura de fibroblastos de pele ou em análises a tecido hepático, constata-se exactamente o contrário ^(12,15,17). Deste modo, a única

consequência da doença traduz-se numa acumulação de galactose-1-P nos eritrócitos o que, aparentemente, não tem consequências fisiopatológicas ^(12,15,17). A avaliação de doentes portadores do déficit enzimático comprova-o cabalmente: não há distúrbios de crescimento bem como de capacidade de metabolizar a galactose ingerida ^(12,15,17).

A forma mais severa, sendo muito rara, praticamente relembra todo o quadro que caracteriza a GC ^(12,15,17). Deste modo, no período neonatal, os sintomas, icterícia, vômitos, perda de peso, hipotonia, hepatomegalia, aminoacidúria generalizada e galactosúria são comuns ^(12,15,17). Esta sintomatologia atenua-se após a implementação de uma dieta restrita em galactose ^(12,15,17). De referir que, a actividade da GALT nos eritrócitos é normal. Relativamente ao prognóstico da doença prevêm-se alterações de desenvolvimento psicomotor, embora as cataratas não se verifiquem ^(12,15,17).

Suspeita-se de deficiência em GALE quando o teor de galactose-1-P eritrocitária é mensurável, juntamente com uma actividade normal da GALT ^(12,15,17). O diagnóstico confirma-se por determinação da actividade enzimática da GALE nos eritrócitos ^(12,15,17). Normalmente, os progenitores dos indivíduos afectados têm valores diminuídos de actividade enzimática ^(12,15,17). Na forma severa, os sintomas clínicos, os sinais bioquímicos e uma deficiência enzimática evidente são determinantes para o diagnóstico ^(12,15,17).

No que respeita ao tratamento, no caso da forma severa, este deve ser mais rigoroso ^(12,15,17). Tal prende-se com o facto do indivíduo ser incapaz de converter glicose em galactose, comportando-se, como tal, como um dependente deste monossacarídeo ^(12,15,17). Uma vez que, como já assinalamos antes, a galactose é fundamental para a síntese de compostos galactosilados, o indivíduo afectado com esta doença deverá ter algum aporte de galactose através da dieta ^(12,15,17). Todavia, a dificuldade reside em definir qual a quantidade necessária, sem correr o risco do aporte ser excessivo, sob pena de se tornar tóxico ^(12,15,17). Esta dificuldade justifica-se

pela ausência de um parâmetro químico que permita basear as necessidades em galactose^(12,15,17).

Relativamente aos indivíduos portadores da forma benigna, não será necessário tratamento, embora devam ser sempre acompanhados para que o seu desenvolvimento psicomotor seja constantemente avaliado^(12,15,17).

3. GALACTOSEMIA CLÁSSICA (GC)

O termo "Galactosemia" tem sido usado para definir síndromes de toxicidade provocados pela ingestão de galactose em indivíduos com deficiências enzimáticas na via de metabolização deste monossacarídeo. Por outro lado, também faz referência aos níveis séricos de galactose. Devido ao facto de existirem diversas etiologias para a galactosemia, este termo, tornou-se inadequado. Como tal, as doenças deveriam ser designadas como *galactosemia por deficiência da transferase*, *galactosemia por deficiência da galactocínase* e *galactosemia por deficiência da epimerase*. O termo galactosemia clássica é usado para descrever a galactosemia por deficiência da transferase, uma vez que esta doença apresenta uma sintomatologia mais complexa, tem a maior taxa de incidência e, das três, constitui a de pior prognóstico⁽¹⁵⁾.

Em 1908, Von Reuss relatava o caso de uma criança que, em aleitamento materno, apresentava atraso de crescimento, hepatoesplenomegalia e galactosúria. A excreção de galactose pela urina cessou quando foi suspenso o aleitamento. Todavia a criança faleceu e o resultado da autópsia revelou cirrose hepática. Pensa-se que foi dado chá com conhaque à criança, o que poderia explicar a cirrose e a galactosúria. Como tal, o diagnóstico não foi reconhecido pela comunidade científica. Contudo, considera-se que constitua a primeira descrição de galactosemia. Em 1917, Goeppert observou galactosúria numa criança com hepatomegalia e atraso mental. Outros

pequenos avanços se sucederam, todos apontando para uma base hereditária desta doença ⁽¹⁸⁾.

A primeira descrição detalhada de GC surge em 1935 por Mason e Turner ⁽¹⁵⁾. Seguiram-se diversos relatos de outros casos e em 1961 já eram discutidas variações nas manifestações clínicas de 45 doentes ⁽¹⁵⁾. Mais recentemente, em 1990, Waggoner e colaboradores, analisando os dados de 350 doentes, tentam definir as linhas gerais do prognóstico da doença ^(15,19).

3.1. GENÉTICA

A GC é uma doença de transmissão autossómica recessiva, com uma incidência de 1:55000 ⁽¹²⁾. O gene que codifica a informação necessária para a síntese da enzima galactose-1-P uridiltransferase (GALT) está situado no cromossoma 9 ^(12,15). O DNAc (ácido desoxiribonucleico complementar) correspondente já foi clonado e sequenciado ⁽¹⁵⁾. Consiste em 11 exons e 10 introns, contabilizando um total de 1295 bases, que codificam um polipéptido com 379 aminoácidos de 43 kDa ⁽¹⁵⁾.

Através de diversos estudos têm tentado identificar-se maior número de mutações no gene responsável pela codificação da GALT, por amplificação do DNAc obtido do RNA de células linfoblásticas de diversos doentes com GC ⁽¹⁵⁾. Determinaram-se as consequências funcionais, de mutações nos aminoácidos correspondentes às posições 44, 62, 142, 148, 188, 195, 314, 319 e 333 ⁽¹⁵⁾. As alterações nas posições 148 e 319 traduzem-se na síntese de uma proteína instável, enquanto que as restantes causam uma diminuição da actividade da GALT ⁽¹⁵⁾.

São já conhecidas mais de 120 mutações no gene responsável pela codificação da GALT ⁽²⁰⁾.

As mutações mais comuns são a Q188R e a K285N, com uma prevalência de cerca de 60 e 30% respectivamente, em populações diferentes de indivíduos com

galactosemia ^(20,21,22,23). Estas mutações são mais frequentes na raça Caucasiana e ambas causam GC ^(20,21). A redução da actividade da GALT para valores nulos e a concomitante gravidade do quadro clínico que provocam são semelhantes ⁽²⁰⁾. A mutação Q188R é devida a uma alteração no nucleótido 591, do exon 6, que leva à substituição da arginina por glutamina ao nível do códon 188 ^(24,25). Para os indivíduos homozigóticos com esta mutação estabelece-se o pior prognóstico, mesmo com diagnóstico e instituição de terapêuticas de forma atempada ^(15,20,25).

Se é certo que, entre os Caucasianos, a mutação Q188R apresenta uma prevalência de 60%, entre os Negros tal não excede os 12% ⁽²⁶⁾. A mutação mais comum entre a raça negra é a S135L, na qual, devido a uma alteração a nível do nucleótido 1158, se verifica substituição da serina pela leucina no códon 135 ⁽²⁶⁾. O resultado da síntese proteica origina uma GALT instável com acelerada taxa de degradação que culmina com a deficiência de actividade manifestada claramente a nível eritrocitário ⁽²⁶⁾. Está descrito que os indivíduos homozigóticos para a mutação S135L têm bom prognóstico desde que diagnosticados cedo e submetidos a dieta restrita em galactose ⁽²⁶⁾. Tal ficará certamente a dever-se ao facto de apresentarem frequentemente actividades da GALT de cerca de 10% a nível hepático e da mucosa intestinal ^(24,27).

Para além das mutações, das quais se destacam as apresentadas anteriormente, existem também situações em que se verifica uma deficiência parcial da GALT ^(12,23,28). Normalmente, encontram-se actividades enzimáticas de 10 a 50% relativamente aos indivíduos normais ^(12,28). A mais comum de todas estas situações é determinada pela variante de Duarte, inicialmente descrita em 1965, por Beutler e colaboradores ^(15,23). Esta mutação traduz-se numa diminuição da actividade da GALT a nível dos eritrócitos, que não acarreta sintomatologia clínica ⁽¹⁵⁾. Na variante de Duarte (N314D), ao nível do exon 10, ocorre uma alteração, da qual resulta a conversão da

asparagina em ácido aspártico no códon 314 ⁽²⁵⁾. Contrariamente aos homozigóticos para a mutação Q188R, nos quais não se verifica actividade da enzima, os indivíduos que possuam nos dois alelos as mutações N314D, têm 50% de actividade da GALT ⁽²⁵⁾. Os heterozigóticos para o alelo de Duarte e para um alelo da GC terão cerca de 25% de actividade da enzima ⁽²⁵⁾. Estes indivíduos e os homozigóticos para o alelo de Duarte, não terão a sintomatologia característica da GC que adiante referiremos e desconhece-se se existem diferenças de prognóstico entre eles ⁽²⁵⁾.

Para além da variante de Duarte, existem ainda outras como a de Rennes e Chicago ⁽¹⁶⁾. As variantes Indiana, com sinais típicos de galactosemia acarretam também diminuição e instabilidade da actividade enzimática a nível dos eritrócitos ⁽¹⁶⁾. Na variante de Munster, a inibição da GALT pela glicose-1-P está na origem da doença ⁽¹⁶⁾.

3.2. ALTERAÇÕES METABÓLICAS

Os indivíduos com deficiência em GALT, conseguem fosforilar a galactose ingerida, embora, não consigam metabolizar a galactose-1-P ^(12,15,29). Como resultado directo não se produz UDP-galactose e acumula-se galactose e galactose-1-P ^(12,15,29).

Com a acumulação de galactose e galactose-1-P, tornam-se importantes duas vias metabólicas alternativas ⁽¹¹⁾. A primeira delas, conduz à formação de galactitol através da redução do grupo aldeído da galactose. Esta reacção é mediada, como assinalamos, pela enzima aldose redutase ^(11,30,31). A outra via metabólica alternativa leva à formação de galactonato através da oxidação da galactose ^(11,30,31).

Relativamente ao galactitol, embora a sua presença no organismo e a sua excreção renal constituam sinais bioquímicos característicos, temos de assinalar que a sua taxa de produção não é constante. A afinidade da enzima aldose redutase para a galactose é relativamente baixa ⁽³⁰⁾. Como tal, para que se observem as taxas mais

elevadas de síntese de galactitol, as concentrações intracelulares de galactose têm de ser bastante elevadas, como as que se verificam nos doentes possuidores de GC ⁽³⁰⁾. Uma vez formado, o galactitol não será metabolizado ⁽³⁰⁾. Posto isto, só serão atingidas grandes concentrações intracelulares de galactitol, quando, a nível sistémico, as concentrações de galactose também estejam muito aumentadas ⁽³⁰⁾. A excreção de galactitol em doentes com deficiência da GALT é cerca de 10 vezes superior à excreção registada em indivíduos normais constituintes de um grupo testemunha ⁽³²⁾. Como já foi referido, mesmo na ausência de galactose proveniente da dieta, os galactosémicos, produzem-na endogenamente na quantidade de cerca de 1 a 2 mg/Kg por hora ⁽³¹⁾. Deste modo, a excreção de galactitol provém, em cerca de 20%, da galactose de origem endógena ^(31,32,33). A excreção urinária de galactitol depende da idade, quer nos galactosémicos quer nos indivíduos normais ⁽³⁴⁾. Em todas as idades, os indivíduos com GC, homocigóticos para a mutação Q188R, na ausência de actividade da GALT e submetidos a dieta restrita em lactose, excretam 5 a 10 vezes mais galactitol que os indivíduos normais constituintes de um grupo testemunha ⁽³⁴⁾. Os galactosémicos com o mesmo genótipo e com idades superiores a 6 anos, excretam, em média, metade da quantidade de galactitol quantificada no grupo de doentes anterior ⁽³⁴⁾. Menores taxas de excreção de galactitol observam-se em indivíduos que têm actividade residual da GALT ⁽³⁴⁾. Os indivíduos portadores da mutação S135L, excretam menores quantidades de galactitol, do que os portadores da Q188R ⁽³⁴⁾. Todavia, os valores continuam a ser elevados identificando-os claramente como possuidores de galactosemia ⁽³⁴⁾. Relativamente aos níveis plasmáticos de galactitol, não se verificam grandes variações entre os galactosémicos mais novos com grandes taxas de excreção e os galactosémicos mais velhos com menores taxas de excreção ⁽³⁴⁾. Tal facto, parece sugerir que os galactosémicos mais novos têm maior taxa de formação de galactitol a partir da galactose resultante da síntese endógena ⁽³⁴⁾.

Outra via metabólica alternativa permite a oxidação da galactose a galactonato (11,15,31,32,33,35). Este é obtido por uma série de reacções em que o carbono 1 da galactose é preferencialmente libertado sob a forma de CO₂, enquanto que o carbono 2 é mantido para constituir o primeiro carbono da xilulose resultante (33,35). Esta via metabólica tem importante significado já que, mesmo nos galactosémicos em tratamento, se verificam excreções significativas de galactonato (35). Por outro lado, o galactonato não é detectado na urina de indivíduos normais qualquer que seja a idade (35). Todavia, quando expostos à ingestão oral de 50g de galactose excretam, na urina, grandes quantidades de galactonato, o que prova a importância do potencial de oxidação da galactose, principalmente quando a capacidade de metabolização da via de Leloir é ultrapassada (35). Para tentar avaliar a capacidade de oxidação da galactose, procede-se à administração de [1-¹³C]galactose em quantidade definida em função do peso do indivíduo (32). Seguidamente realizam-se testes respiratórios com a finalidade de identificar a percentagem da dose eliminada sob a forma de ¹³CO₂ libertada por minuto (32). Verifica-se então que, os indivíduos possuidores de GC devido à mutação Q188R, são os que apresentam valores percentuais mais baixos, seguidos dos homozigóticos para a S135L (32).

A relação entre a excreção de galactitol e de galactonato é cerca de 7:1 até ao ano de idade, baixando para cerca de 3:1 após os dois anos de vida (31). O metabolismo da galactose no indivíduo com défice em GALT fica a dever-se ao balanço entre estas duas vias metabólicas alternativas, à pouca galactose que deve provir da dieta e da resultante da síntese endógena (31).

3.3. FISIOPATOLOGIA

Quando, em 1935, Mason e Turner afirmavam que, ao eliminarem a galactose da dieta de um indivíduo com galactosemia revertiam a sintomatologia aguda, estavam ainda certamente longe de imaginar que, mesmo assim, não conseguiam evitar as complicações a longo prazo que a doença invariavelmente acarreta ⁽³¹⁾. Passado tanto tempo mantém-se o enigma. De facto, não se compreende a ineficácia do tratamento dietético na prevenção das complicações tardias da GC. Certamente que existirão mecanismos específicos, que estarão na base da etiologia das complicações da doença. Dado que ainda não foi encontrada justificação adequada para a ineficácia do tratamento dietético, mantêm-se as três causas hipotéticas para o mau prognóstico generalizado da GC ⁽¹¹⁾. A primeira delas diz respeito à intoxicação crónica com a galactose resultante da produção endógena ou veiculada pela dieta ^(11,36,37,38). A segunda prende-se com uma depleção de metabolitos como o poliol cíclico, o inositol e a UDP-galactose, que poderá estar na origem de um defeito no processo de galactosilação ^(11,39,40,41). A terceira causa possível relaciona-se com "in útero" ^(11,42,43).

A intoxicação crónica resulta de, mesmo nos indivíduos melhor tratados, se verificar que a galactose-1-P eritrocitária se encontra cronicamente aumentada relativamente aos valores normais e se acompanha de excreções de galactitol cerca de dez vezes superiores ao normal ^(11,36,37). Qual seria então a fonte de galactose para justificar estas constatações bioquímicas? A nível endógeno existe uma constante produção de galactose-1-P através da clivagem da UDP-galactose, a qual é normalmente formada via UDP-glicose ^(11,36,37). Por outro lado, a degradação de inúmeras moléculas galactosiladas complexas origina libertação de galactose em quantidades indefinidas ⁽¹¹⁾. Diversos estudos apontam para taxas de produção endógena de 1.1 a 1.3g de galactose por dia. Estas ultrapassam largamente a ingestão verificada através da dieta ⁽³⁶⁾. A galactose exógena, isto é, a galactose alimentar, é

impossível limitar na íntegra, uma vez que, compostos como galactanos e outros hidratos de carbono complexos, com galactose ligada, podem libertar galactose, cuja quantidade, não é possível detectar ⁽¹¹⁾. Todos estes factores poderiam permitir aumento dos níveis de galactose-1-P, e daí resultar patogénese da GC ⁽³⁸⁾.

Estudos realizados em animais permitem demonstrar que a galactose-1-P pode estar na origem da inibição da glicose-6-fosfatase. Igualmente, a inibição da glicose-6-fosfatase desidrogenase pode constituir o mecanismo responsável pela formação de cataratas em animais intoxicados pela galactose. A galactose pode também interferir na captação de oxigénio, inibindo a respiração ao nível dos eritrócitos. Há igualmente referência à inibição da fosfoglucomutase, que capta galactose-1-P convertendo-a em glicose-1-P, embora por um mecanismo mais lento, bem como da fosforílase a nível hepático, interferindo no metabolismo do glicogénio. Obviamente que estes estudos, uma vez que são experimentais, são apenas hipotéticos ⁽³⁸⁾.

Por outro lado, sabe-se que, a via da pirofosforílase converte a glicose-1-P em UDP-galactose, mas talvez não converta a galactose-1-P em UDP-galactose ⁽³⁸⁾. Esta galactose-1-P pode então ser desfosforilada a galactose, completando-se a biogénese da auto-intoxicação ⁽³⁸⁾. Todavia, esta desfosforilação nem sempre acontece o que provoca a retenção de fósforo e resulta na perda da regeneração de ATP ⁽³⁸⁾.

A segunda hipótese, relacionada com a diminuição da concentração de determinados metabolitos, parece ganhar corpo a partir do momento em que a nível do olho e do nervo periférico são observadas baixas concentrações de inositol e poliol cíclico em animais experimentalmente intoxicados com galactose ⁽¹¹⁾. Esta situação pode resultar numa alteração do metabolismo do fosfatidilinositol com perturbação da condução de sinais a nível intracelular ⁽¹¹⁾. Devido à deficiência da enzima GALT, levantou-se a possibilidade de que presumíveis baixos níveis de UDP-galactose levariam a síntese deficiente de galactolípidos, galactoproteínas e outras moléculas

galactosiladas ⁽¹¹⁾. A deficiência da galactosilação da FSH, pode eventualmente ser devida ao déficit de UDP-galactose a nível celular ⁽³¹⁾. Autópsias realizadas revelam níveis baixos de galactolípidos, bem como glicoconjugados alterados ⁽³¹⁾. Os estudos que compararam a relação UDP-glicose:UDP-galactose bem como os níveis de UDP-galactose a nível dos eritrócitos, fibroblastos e leucócitos circulantes, permitem constatar que as anomalias nas concentrações dos metabolitos só se verificam a nível eritrocitário e podem estar relacionadas com a acumulação de galactose-1-P ⁽³⁹⁾. Recentemente, têm sido publicados casos de doentes com GC que apresentam isoformas patológicas de transferrina, relembrando os CDGS (síndromes das glicoproteínas deficientes em hidratos de carbono) tipo I ⁽⁴⁰⁾. Apesar de tudo isto, não podemos esquecer que ocorre síntese endógena de UDP-galactose por acção da GALE convertendo a UDP-glicose ⁽⁴¹⁾!

De facto, é evidente que existe um defeito no processo de galactosilação ⁽³⁹⁾. Falta ainda esclarecer se este defeito é devido aos baixos níveis de UDP-galactose e à baixa relação UDP-glicose:UDP-galactose ⁽³⁹⁾. Será que estes factos funcionam como um possível mecanismo etiológico das complicações da GC ^(39,44)? Quais serão as concentrações de UDP-hexoses nos tecidos mais afectados como por exemplo as células ováricas ou o cérebro ⁽⁴⁴⁾?

A outra possibilidade responsável pela fisiopatologia poderá ser a toxicidade a nível uterino ⁽¹¹⁾. O fundamento assenta em diversas constatações.

Por um lado, observam-se diversas anormalidades no período neonatal, como por exemplo, cataratas a nível fetal ⁽¹¹⁾. Está descrito um caso em que foram detectadas cataratas ao nascer, apesar da mãe ter cumprido uma dieta restrita em galactose ⁽⁴²⁾.

A acumulação de metabolitos parece constituir outra peça para a evidência ⁽¹¹⁾. Por volta da décima semana de gestação, o fígado fetal já possui as enzimas

responsáveis pelo metabolismo da galactose ⁽⁴²⁾. Durante os segundo e terceiro trimestres de gravidez, as actividades da GALK e da GALT revelam índices não mais observados em nenhum outro período da vida, enquanto que a GALE apresenta uma actividade compatível com a observada nas crianças e nos adultos ⁽⁴²⁾. Mesmo com a mãe de um feto galactosémico a cumprir uma dieta restrita em galactose, são detectáveis valores anormais de galactitol no líquido amniótico, indicando que esta substância se está a formar no novo ser em desenvolvimento ⁽¹¹⁾. Adicionalmente, verificam-se níveis elevados de galactose-1-P ⁽¹¹⁾. Estes valores alterados são já detectados cerca das vinte semanas de gestação ⁽⁴²⁾. Estas observações comprovam a exposição do feto à galactose e a existência de metabolismo prenatal de galactose alterado ⁽¹¹⁾. Obviamente que parte da galactose a que o feto se encontra exposto provém da mãe. Todavia, está assente que a restrição dietética por parte da mãe não influencia os níveis de galactitol observados no líquido amniótico ou os níveis de galactose-1-P avaliados no cordão umbilical ⁽⁴²⁾. Mesmo assim, estes valores são inferiores aos observados no recém nascido exposto a galactose ⁽⁴²⁾. De acordo com estas evidências, verifica-se a produção, por parte do feto, de galactose-1-P tendo como substrato a glicose-1-P ⁽⁴²⁾. Por outro lado, verifica-se também a síntese de UDP-galactose, quer por ausência de galactose vinda da dieta, quer por défice de GALT, de modo a fazer face às necessidades impostas pela síntese de galactoconjugados ⁽⁴²⁾. Há igualmente relatos de fetos que, a meio da gestação, revelavam valores elevados de galactose, galactose-1-P e galactitol a nível hepático ⁽⁴²⁾.

Paralelamente, verifica-se através de estudos experimentais que, gestantes alimentadas com altas doses de galactose, geram crianças com alterações metabólicas dado que a galactose atravessa rapidamente a placenta ^(11,43). O resultado destas alterações metabólicas torna-se evidente pela presença de cataratas no recém nascido, pelo baixo peso e reduzida quantidade de DNA cerebrais e pelo aumento da

quantidade de galactitol nas terminações nervosas com metabolismo anormal do inositol a nível do cérebro ^(11,43). Também se verifica número reduzido de oócitos nos ovários das fêmeas, em fases mais avançadas das suas vidas ⁽¹¹⁾.

Parece então que, há manifestações clínicas para os efeitos da galactosemia a nível uterino, uma vez que a cirrose, as cataratas e os pseudotumores cerebrais, parecem ter origem a nível fetal ⁽⁴²⁾. Para finalizar, o baixo peso à nascença registado nos indivíduos afectados, parece explicitar bem os efeitos da galactosemia prenatal ⁽⁴²⁾.

3.4. COMPLICAÇÕES

Enigmáticamente, apesar do diagnóstico e tratamento precoces que aliviam a toxicidade aguda da doença, os indivíduos com GC têm diversas complicações a longo termo ⁽³¹⁾. Estas consistem basicamente em atraso de crescimento, perturbações da fala, deficiência mental, síndromes neurológicas, dificuldade de orientação espacial e da percepção visual e falência ovárica ^(12,15). Habitualmente, nem todos os doentes apresentam o conjunto de todas as complicações. Todavia, uma grande parte delas manifesta-se em quase todos ⁽¹²⁾.

A actividade da enzima GALT é variável nos diversos tecidos dos organismo. À luz da própria regulação da expressão genética da GALT, sugere-se que muitas das complicações vistas na GC estejam relacionadas com uma sensibilidade específica dos órgãos à deficiência enzimática ⁽⁴⁵⁾.

3.4.1. S.N.C. E NERVO

As alterações do tecido nervoso constituem uma manifestação da toxicidade da galactose que pode ocorrer de modo irreversível.

Ainda não são conhecidos com certeza os mecanismos pelos quais a galactose e ou os seus metabolitos causam atraso mental ou sintomas neurológicos específicos ⁽⁴⁶⁾. Porém, levantam-se três hipóteses que são bastantes discutidas: edema tóxico

devido ao aumento das concentrações cerebrais de galactitol; alterações na via do segundo mensageiro e alteração dos níveis energéticos no cérebro ⁽⁴⁶⁾.

No que respeita ao galactitol, as enzimas responsáveis pela sua síntese a nível cerebral encontram-se activas, de modo que, este acumula-se em grandes quantidades ⁽¹⁵⁾. Diversos estudos experimentais permitem afirmar que o cérebro, imediatamente a seguir ao olho, é o segundo local de maior acumulação do galactitol ⁽¹⁵⁾. Esta acumulação leva a um aumento de pressão com edema que pode justificar o facto de animais intoxicados terem diminuição da condução nervosa ⁽¹⁵⁾. Este aumento de pressão relaciona-se com a desmielinização das fibras nervosas o que caracteriza a neuropatia periférica que se instala ⁽¹⁵⁾. No entanto, o edema que se verifica nos nervos periféricos dos animais pode ser revertido através da administração de um inibidor da aldose redutase como é o caso do sorbinil ^(15,46).

A exposição do feto à galactose conduz a uma alteração da conversão da glicose em mio-inositol ⁽¹⁵⁾. Deste modo, duas autópsias a recém nascidos vitimados pela doença revelaram reduções marcadas, até cerca de 80%, dos teores de mio-inositol livre bem como de fosfatidilinositois, em comparação com indivíduos testemunha ⁽⁴⁶⁾.

A degradação neurológica observada inclui a formação de pseudotumores cerebrais que pode estar relacionada com o aumento das concentrações de galactitol ou com a alteração do fornecimento de energia ao próprio cérebro ⁽⁴⁶⁾. Porém, estudos experimentais permitem deduzir que talvez não sejam as alterações do metabolismo energético a justificar a degradação neurológica, uma vez que, em alguns casos, se assiste a um aumento da energia disponível aquando de altas ingestões de galactose ⁽⁴⁶⁾.

Avaliações feitas a grupos de crianças revelam que o anormal funcionamento cognitivo, os defeitos na fala e na linguagem e, em alguns casos, as sequelas

nerológicas graves, estão presentes numa percentagem substancial dos indivíduos⁽⁴⁷⁾. Verifica-se, no entanto, que os níveis cognitivos mais elevados se registam nos indivíduos mais novos^(47,48). Como não se prevê que, com o avanço da idade, se verifique uma diminuição desses mesmos níveis cognitivos, as diferenças encontradas não têm, para já, justificação⁽⁴⁷⁾. É observado nas crianças um atraso generalizado do desenvolvimento da fala^(47,48,49). Este atraso manifesta-se numa incapacidade de realização de movimentos precisos da musculatura responsável pela articulação das palavras, de modo que, a produção dos sons é prejudicada⁽⁴⁹⁾.

Curiosamente, as alterações da substância branca verificadas nos doentes, não se relacionam com os sintomas neurológicos, com a idade de diagnóstico, com a severidade da doença bem como, com os níveis cognitivos, o que acarreta dificuldades à melhor compreensão deste verdadeiro enigma chamado Galactosemia Clássica⁽⁴⁷⁾.

3.4.2. OLHO

A nível ocular a maior complicação da GC são as cataratas^(15,50). As investigações desenvolvidas com o intuito de elucidar a causa da formação das cataratas, evidenciam que alimentando animais com altas doses de galactose (40 a 50% da dieta), se induz facilmente a formação de cataratas. A indução é tanto mais eficaz quanto maior a dose de galactose e menor a idade dos indivíduos. Relativamente ao sexo, há a destacar o facto da prolactina acelerar todo o processo. As cataratas revertem-se desde que a galactose seja retirada da alimentação. O mecanismo de formação da catarata terá eventualmente a ver com a presença significativa, a nível do olho, da enzima aldose redutase, responsável pela formação do galactitol. Dietas ricas em galactose bem como níveis altos de magnésio têm um papel favorável no aumento da concentração da referida enzima. Após a síntese do galactitol, este torna-se osmoticamente activo devido à dificuldade em se difundir através dos tecidos oculares. Ocorre então uma chamada de água que, causará

precipitação das proteínas, conduzindo, assim, à formação de cataratas ⁽¹⁶⁾. Os inibidores da aldose redutase, prevenindo a formação do poliol, previnem, concomitantemente, a formação das cataratas. A evidência de que seja, de facto, o galactitol, e não a galactose-1-P, o responsável pela formação das cataratas, é reforçada pelo facto, dos indivíduos que têm deficiência da enzima galactocínase, formarem cataratas invariavelmente, na ausência de galactose-1-P ⁽¹⁵⁾.

São muitos outros os mecanismos bioquímicos que conduzem à formação das cataratas. Estes incluem, alterações da síntese proteica, da produção de RNAm codificador de proteínas fibrosas, do transporte de aminoácidos, do conteúdo em sódio, da actividade das bombas Na^+/K^+ , dos níveis de RNAm, da biosíntese das prostaglandinas, das enzimas do metabolismo dos hidratos de carbono e da glutathione redutase. Após o edema, verifica-se primariamente uma descida dos níveis da glutathione. Por outro lado, as alterações dos níveis de ATP, são mais tardias no desenrolar de todo o processo. A glicólise e a respiração a nível ocular reduzem-se em cerca de 30%. Todo o aumento da acumulação de galactitol parece diminuir o conteúdo de inositol, embora as repercussões deste facto não estejam esclarecidas ⁽¹⁵⁾.

Apesar de tudo isto, as cataratas não constituem a única complicação da GC a nível ocular ⁽⁵⁰⁾. Foram descritos nove casos de hemorragia a nível do vítreo, com coagulopatia associada, pode conduzir à cegueira ⁽⁵⁰⁾. Esta situação é rara, está normalmente associada às complicações perinatais e não tem relação com as hemorragias intra-retinais tipicamente benignas resultantes do parto ⁽⁵⁰⁾.

3.4.3. FÍGADO

Contrariamente ao que se passa com as cataratas, os motivos que conduzem à intoxicação hepática ainda não estão bem definidos. Contudo, é certo que os indivíduos não tratados evoluem para cirrose hepática ⁽¹²⁾.

A afectação severa do fígado, frequentemente observada nos doentes com GC, não é observada em animais sujeitos a uma dieta rica em galactose. Embora no fígado das crianças, se acumule galactose-1-P e galactitol, nos animais, apenas se acumula galactose-1-P. Por outro lado, os doentes com deficiência em galactocínase, que ingerem galactose em excesso, produzem grandes quantidades de galactitol, sem que haja repercussões a nível hepático. Deverá, portanto, existir um outro metabolito ainda desconhecido, que provoque as alterações hepáticas responsáveis pela cirrose do órgão ⁽¹⁵⁾.

A presença de galactonato no fígado, quer de animais alimentados com dietas ricas em galactose, quer em crianças, poderá constituir uma pista para investigações futuras. Por outro lado, sabe-se que a galactosamina induz alterações hepáticas em animais. No entanto, a transposição deste facto para os humanos ainda não foi efectuada ⁽¹⁵⁾.

Muitas outras questões se levantam sobre a fisiopatologia das alterações hepáticas, quer sobre a diminuição dos níveis de glicogénio quer sobre os menores índices de fosforilação das hexoses. No que respeita às hipoglicemias que por vezes ocorrem a sua causa parece ser predominantemente hepática, uma vez que se sabe que a galactose não estimula a libertação de insulina pelas células β do pâncreas. A sobrecarga alimentar com galactose em doentes com GC permite verificar que se desencadeiam alterações da glicogenólise hepática e que a resposta ao glucagon se encontra atenuada. A biópsia hepática de um doente permitiu verificar a alteração da síntese do glicogénio ⁽¹⁵⁾.

Há ainda muito trabalho a desenvolver para se apurarem com certeza as causas das alterações hepáticas dos galactosémicos.

3.4.4. RIM

Provavelmente não é neste órgão que as maiores complicações da GC se fazem sentir. Todavia, a galactose-1-P e o galactitol têm sido detectados no rim de doentes com esta doença hereditária do metabolismo. A aminoacidúria característica dos indivíduos com déficit de GALT não é observada nos que apresentam deficiência da galactocínase e que excretam grandes quantidades de galactitol. Esta aminoacidúria pode ser induzida pela administração de galactose intravenosa.

Estudos experimentais permitem verificar que, sempre que as dietas são muito ricas em galactose, ocorre acumulação de galactitol a nível renal com aminoacidúria e aumento da excreção de albumina e N-acetilglicosaminidase. Admite-se que as grandes quantidades de galactose, provenientes da dieta, possam alterar o modo de acumulação dos aminoácidos nas células tubulares renais ⁽¹⁵⁾.

Diversos estudos experimentais permitem constatar que a galactose e o galactitol são metabolitos amplamente excretados pelo rim e que as suas concentrações são superiores às observadas no fígado e no cérebro ⁽⁵¹⁾.

3.4.5. ESQUELETO

O atraso de crescimento é frequentemente observado em indivíduos com GC e constitui uma das grandes complicações da doença ⁽¹²⁾. A importância que o cálcio desempenha no crescimento ósseo encontra-se bem documentada. Admite-se que a GC possa conduzir a osteoporose pelo hipogonadismo associado como pela baixa ingestão de cálcio ⁽⁵²⁾. Por isso se sugere a suplementação com cálcio desde se evite a hipercalcúria através da avaliação bioquímica sistemática destes doentes ⁽⁵³⁾.

3.4.6. GÓNADAS

A atrofia ovárica com evidências clínicas e bioquímicas de disfunção parece constituir outra grande manifestação da toxicidade da galactose. Embora as bases da

toxicidade ainda não estejam completamente definidas, esta disfunção encontra-se presente em grande número de mulheres (75 a 96%) com GC ^(15,54,55).

A alteração manifesta-se em idade jovem por elevação dos níveis da FSH e da LH, as hormonas estimuladoras dos folículos e do corpo lúteo, respectivamente ⁽⁵⁶⁾. A presença ou ausência de insuficiência ovárica não se relaciona com a precocidade do tratamento ^(55,56,57,58).

As principais consequências da disfunção gonadal podem traduzir-se por alterações do desenvolvimento pubertário, amenorreia primária e secundária menopause precoce ⁽⁵⁴⁾.

A observação de folículos normais em crianças recém nascidas com GC faz supor que as alterações ováricas não tenham origem fetal ^(15,55). Por outro lado, a avaliação prolongada de mulheres com GC, permite constatar que, a partir de determinado momento, se altera o funcionamento normal do ovário e muitas das vezes, diminui o número de folículos normais ⁽¹⁵⁾. Estas observações foram feitas em mulheres cuja terapêutica era seguida correctamente, pelo que parece haver uma toxicidade específica no ovário ⁽¹⁵⁾. Biópsias ováricas em mulheres com GC, permitem mostrar diminuição do número de folículos primordiais, numerosos folículos atrésicos e completa ausência de folículos de Graff ⁽⁵⁷⁾.

São muitos os estudos e as tentativas para explicar os mecanismos da toxicidade a nível ovárico. Uma das principais teorias aponta para uma deficiente galactosilação da FSH. A FSH, sendo uma glicoproteína, contém cadeias laterais de oligossacarídeos com resíduos de galactose e N-acetilgalactosamina. O deficiente conteúdo de galactose nas cadeias laterais, não permite a ligação a estas, do ácido siálico e dos sulfatos. Deste modo, o ponto isoeléctrico da glicoproteína formada é superior ao normal, traduzindo-se por um valor de pH quase neutro. Deste modo, a alteração do ponto isoeléctrico que vai determinar o comportamento da hormona,

conduzirá a que a FSH apresente uma acção antagónica a nível dos receptores celulares ⁽⁵⁶⁾. Por outro lado, há estudos que apontam o galactitol como principal causador da toxicidade uma vez que este se encontra no líquido amniótico e tem assim tempo suficiente para exercer efeitos tóxicos no ovário fetal ⁽⁵⁴⁾. Contudo, esta hipótese é logo contestada pelo facto dos indivíduos com deficiência em galactocínase, que têm valores elevados de galactitol, não manifestarem este tipo de complicações ováricas ⁽⁵⁴⁾. Outras opiniões marcam a génese das alterações para o momento da migração das células germinativas primordiais ⁽⁵⁴⁾. Se assim fosse, as alterações deveriam atingir igualmente as espermatogónias, o que parece não acontecer ⁽⁵⁴⁾.

A falência ovárica juntamente com as baixas ingestões de cálcio e os defeitos da síntese do colagéneo são apontadas, por alguns autores, como causas da osteoporose que por vezes se observa ⁽⁵⁹⁾.

No entanto, embora a maioria das mulheres com GC seja infértil, existem relatos de concepções bem sucedidas ^(55,60).

Relativamente aos homens, é menor o número de estudos realizados nesta área ⁽⁵⁶⁾. Todavia, a maioria dos estudos aponta para uma função gonadal normal com níveis normais de gonadotropinas ⁽⁵⁶⁾. O atraso do desenvolvimento pubertário é pouco frequente, bem como a atrofia testicular ^(54,56).

3.4.7. SISTEMA CARDIOVASCULAR

As complicações cardiovasculares, embora existam, não são habitualmente encontradas em doentes com GC ⁽⁶¹⁾. Todavia, estão descritos casos de alterações da coagulação por envolvimento de todos os factores do complexo da protrombina ⁽⁶¹⁾. Assim, a depleção destes factores pode estar na origem de algumas hemorragias ⁽⁶¹⁾. A redução dos teores de fibronogénio, embora possível, é pouco usual ⁽⁶¹⁾.

As alterações da coagulação observadas nos doentes com deficiência de GALT poderiam estar dependentes das complicações a nível hepático ⁽⁶¹⁾. Os mecanismos

serão indubitavelmente complexos, uma vez que, crianças com cirrose hepática, mas sem GC, não apresentam complicações tão profundas e com uma rapidez de agravamento tão elevada ⁽⁶¹⁾.

3.5. APRESENTAÇÃO CLÍNICA

A gama de sinais clínicos, evidente no período neonatal e característica dos recém nascidos com GC, é muito ampla. A maioria dos sintomas aparece na segunda metade da primeira semana de vida ^(12,15). Toda a sintomatologia sofre um forte agravamento a partir da ingestão do leite, pelo facto de este veicular grandes quantidades de galactose ^(12,15).

Mesmo com peso ao nascer dentro da normalidade, imediatamente se assiste a uma má evolução. A perda de peso é notória a partir da alimentação láctea. Este constitui o sinal inicial mais comum. Poucos dias após se ter iniciado a ingestão de leite, surgem os vómitos por vezes acompanhados de diarreia. Instala-se igualmente um quadro de recusa alimentar, com irritabilidade. Muitos dos doentes, nas primeiras semanas de vida revelam uma icterícia marcada. Nos casos menos severos o recém nascido pode não apresentar sinais clínicos de atingimento hepático agudo. Todavia, os indivíduos com GC não tratada, evoluem, invariavelmente, para cirrose hepática. Análises histológicas, por vezes revelam infiltrados de gordura a nível hepático bem como ligeiras alterações inflamatórias. A ascite encontra-se com alguma frequência, mesmo em doentes com ausência de hipertensão portal ou hipoalbuminemia severa. As cataratas, quando presentes, são detectadas, pelo oftalmologista, poucos dias após o nascimento, tornando-se irreversíveis dentro de poucas semanas. Por vezes, encontram-se sinais de elevação da pressão intracraniana e edema cerebral. De um modo geral, a letargia e a hipotonia são evidentes. Quando desfavoráveis, os primeiros

meses de vida, podem ser suficientes para que já se evidencie algum atraso do desenvolvimento mental ^(12,15).

Quando o diagnóstico não era efectuado rapidamente, com instituição imediata das medidas terapêuticas, a morte neonatal por sepsis, provocada por *E.coli*, era muito frequente ^(12,15,62).

Os casos de deficiência parcial da enzima GALT são, normalmente, assintomáticos ⁽¹²⁾.

3.6. DIAGNÓSTICO

Porque a GC conduz à morte inexoravelmente é crucial que o aleitamento do recém nascido seja suspenso mal surja a suspeita do diagnóstico, sendo retomado, quando terminem todas as investigações necessárias à sua exclusão ⁽¹²⁾.

Para além de toda a sintomatologia característica, que foi apresentada anteriormente, os dados laboratoriais serão decisivos para o diagnóstico ⁽¹²⁾.

Deste modo, para além dos indicadores de disfunção hepática, deve procurar-se a presença de substâncias redutoras na urina, o que constitui uma das primeiras pistas analíticas para o diagnóstico ^(12,15). Concomitantemente com a elevação marcada a nível sérico, a galactose está presente na urina, desde que, da última refeição não diste muito tempo e desde que os vômitos não tenham ocorrido de modo sistemático ⁽¹²⁾. Esta galactosúria é marcada e não deve ser confundida com a transitória, frequentemente observada nos recém nascidos pré-termo devida à sua imaturidade hepática ⁽⁶³⁾. Na urina, estão presentes, de igual forma, glicose e aminoácidos, como prova de que se desenvolve um síndrome de toxicidade a nível do túbulo proximal renal, induzido pela galactose ⁽¹²⁾. Contudo, um dos primeiros sinais de alteração da função renal é a albuminúria, a qual pode ocorrer um a dois dias após a ingestão de galactose, desaparecendo, depois, com a instalação da terapêutica dietética ⁽¹⁵⁾. Outro

dado fundamental para o diagnóstico, reside no facto de que, uma vez suspensa a ingestão de leite, a galactosúria é atenuada, enquanto níveis elevados de galactitol e aminoácidos continuarão a ser excretados, em grandes quantidades, por mais alguns dias ⁽¹²⁾. A acidose metabólica pode ser secundária ao distúrbio gastrointestinal, à diminuição da ingestão ou ser o resultado da disfunção tubular renal nos mecanismos de acidificação da urina ⁽¹⁵⁾.

O galactosémico em aleitamento pode atingir valores de galactose sérica de 175 mg/dl a 275 mg/dl, para um normal inferior a 5 mg/dl ⁽¹⁵⁾. Por outro lado, a galactose-1-P encontra-se aumentada nos tecidos e a nível eritrocitário ⁽¹⁵⁾. Nos tecidos, no sangue e na urina, os valores de galactitol são igualmente elevados. O galactonato urinário encontra-se também aumentado ⁽¹⁵⁾.

Toda a sintomatologia característica bem como todos os dados laboratoriais, apenas sugerem o diagnóstico. Este só é estabelecido definitivamente após a avaliação da actividade da enzima GALT ^(12,15). Esta terá de ser avaliada no sangue ou em hemolisados de eritrócitos.

Embora a sintomatologia da GC apareça muito cedo, no período neonatal, a sua evolução é rápida, e com um final fatal, se os cuidados necessários não forem implementados atempadamente. É no seguimento desta constatação que faz sentido falar em rastreio da doença, por forma a permitir uma maior rapidez de actuação, mesmo antes de todos os sintomas estarem perfeitamente definidos. Desde 1964 que se encontram disponíveis métodos para a realização do rastreio da GC ⁽⁶⁴⁾. Apesar de se tratar de uma doença rara, foram muitos os países a incluir o rastreio da GC nos seus programas nacionais ⁽⁶⁴⁾.

Ao longo dos anos, muitos métodos para a avaliação da actividade da enzima GALT foram sendo desenvolvidos ⁽⁶⁴⁾. Até ao presente o método de eleição foi o sugerido por Beutler ⁽⁶⁴⁾. Trata-se de um teste qualitativo, no qual a actividade da

enzima GALT é avaliada, com a ajuda da fosfoglucomutase e da glicose-6-fosfatase desidrogenase, através da visualização da fluorescência do NADP+ reduzido sob a luz ultravioleta ^(64,65). Este teste permite uma imediata detecção dos doentes com GC. Tem como limitações o facto de estar dependente da avaliação visual, bem como do calor, da humidade e da instabilidade enzimática que pode originar resultados falsamente positivos ⁽⁶⁴⁾. Por outro lado, falsos negativos podem surgir na sequência de transfusões sanguíneas nos recém nascidos ^(64,66). Por isso começam já a surgir alterações ao método. É proposta uma avaliação quantitativa da enzima, através da modificação instrumental da análise, permitindo a determinação precisa da actividade da enzima, tendo em consideração a influência das variações de temperatura e de humidade, a duração entre a amostragem e o teste propriamente dito, e os casos de anemia ⁽⁶⁵⁾.

Com a gravidade da GC cada vez mais e melhor documentada, muito tem sido debatida a justificação do diagnóstico prenatal para esta doença hereditária do metabolismo ⁽⁶⁷⁾. O referido diagnóstico é possível através da avaliação da actividade da enzima GALT em cultura de células amnióticas, por biópsia às vilosidades coriônicas ou por doseamento do galactitol no líquido amniótico ⁽⁶⁷⁾. Este último permite uma detecção mais fácil, rápida e eficaz. O diagnóstico prenatal: permitirá fornecer informações aos pais sobre os seus futuros filhos ⁽⁶⁷⁾. Por outro lado, o tratamento poderá ser iniciado mais cedo, embora a necessidade de restrição de galactose na alimentação da mãe ainda permaneça motivo de debate ⁽⁶⁷⁾.

Contudo, uma vez que, uma dieta restrita em galactose, durante a gestação, não parece ter grande relação com a instalação e gravidade das complicações futuras da criança, a justificação do diagnóstico precoce pela necessidade de tratamento da mãe, parece talvez insuficiente ⁽⁶⁷⁾.

3.7. TRATAMENTO

O tratamento do recém nascido com GC, consiste na exclusão de toda a galactose da dieta, devendo ser iniciado imediatamente, mesmo antes de todos os resultados dos testes de diagnóstico estarem disponíveis ⁽¹²⁾. Quando a dieta é instituída atempadamente, a sintomatologia da fase aguda desaparece, sendo que, a icterícia se resolverá dentro de dias, as cataratas poderão clarear e retornarão à normalidade as funções renal e hepática. Deste modo, evita-se a evolução para cirrose hepática ⁽¹²⁾. Há contudo, autores que referem não existir relação entre a rapidez de instituição do tratamento e o aparecimento das complicações, ou seja, por muito cedo que seja instituída a dieta, os problemas surgirão de igual forma ⁽⁶⁸⁾. Talvez resida neste aspecto a base de todo este grande dilema ^(11,31,68).

Quando se aborda a complicada questão do tratamento há alguns aspectos que devem estar bem presentes. O primeiro deles, prende-se com o facto do organismo humano, desde a vida embrionária, ser capaz de sintetizar a sua própria galactose e por isso não depende da sua presença nos alimentos. Então, qual deveria ser a ingestão segura de galactose diária? A resposta ainda não se encontra formulada. Apenas se sabe que pequenas quantidades deste monossacarídeo provocam uma subida apreciável da galactose-1-P nos eritrócitos, assumindo-se que o mesmo acontecerá em tecidos igualmente sensíveis como o rim, fígado e cérebro. Uma dieta restrita em galactose para um adulto, fornecerá cerca de 20 a 40mg do monossacarídeo por dia. No entanto, sabe-se que a síntese endógena, a partir da glicose, chega a atingir valores entre 1 e 2g por dia ^(12,31). Este "auto-abastecimento" contínuo dificulta a prevenção da instalação de complicações tardias em caso de doença! Para dificultar mais o tratamento, contrariamente ao que acontece em algumas outras doenças hereditárias do metabolismo, não há qualquer desconforto ou aversão durante a ingestão de alimentos ricos em galactose ⁽¹²⁾. Em resumo, podemos

afirmar que a dieta evita a morte do recém nascido, embora não previna a instalação de complicações tardias. Tal facto é comprovado pela elevada incidência destas complicações em indivíduos que sempre cumpriram os regimes alimentares prescritos (12,69).

3.7.1. TRATAMENTO DIETÉTICO

As necessidades nutricionais e energéticas para recém nascidos e crianças com GC em tratamento, são iguais às recomendadas para indivíduos normais da mesma idade, sexo e nível de actividade física. Ainda não está esclarecido se, aportes de energia e proteínas acima do normal, evitam o atraso de crescimento frequentemente observado nestes doentes (70).

A elaboração de uma dieta pobre em galactose parte do princípio do perfeito conhecimento das formas de apresentação do monossacarídeo.

O leite e os seus derivados são as fontes mais conhecidas de caseínas e lactose (69,70). Esta lactose, depois de desdobrada, biodisponibilizará facilmente galactose. Como exemplo, temos o caso do iogurte que, por cada 100g, contém de 900 a 1600mg de galactose (71). As diferentes formas de caseínas contêm quantidades variáveis de galactose. Assim, por cada 100g, as α -caseínas contêm cerca de 75mg de galactose, as β -caseínas cerca de 52mg e as γ -caseínas 48mg (69). Consequentemente, o leite e os seus derivados são tradicionalmente eliminados de uma dieta restrita em galactose (71). Os hidrolisados de caseína presentemente usados na produção de fórmulas infantis também contêm galactose, cujos teores se situam entre 60 e 75mg/L de fórmula (69). Desde há 50 anos que diversos estudos têm sido desenvolvidos no sentido de apurar o conteúdo em galactose de diversos alimentos (69,70,71,72). Deste modo, a galactose no seu estado livre, foi encontrada em muitos e variados alimentos como o feijão, as lentilhas, carnes, órgãos e vísceras, diversos legumes, cereais bem como em frutos e outros produtos hortícolas (71). A investigação dos conteúdos de

galactose destes subgrupos de alimentos é importante, uma vez que os que apresentarem teores mais elevados, terão de ser retirados da dieta.

Mas a galactose não aparece apenas na sua forma livre. Este monossacarídeo encontra-se igualmente conjugado em diversos compostos. Uma delas é a lactose que também é usada em diversos medicamentos, devendo como tal ser dada atenção especial a esta fonte. Por outro lado, compostos como arabinogalactanos, galactanos, glicolípidos, galactinol, lactobionato de cálcio apresentam, na sua constituição, galactose. Preparados hormonais incluindo agentes contraceptivos orais contêm igualmente galactose entre as suas listas de ingredientes. A parede celular da maioria das plantas, nomeadamente das suas partes edíveis, têm na sua constituição polissacarídeos com apreciáveis teores de galactose. De realçar igualmente, nessas mesmas plantas, a presença de oligossacarídeos como rafinose, estaquiase e verbascose que podem conter até três moléculas de D-galactose. Galactocerebrosídeos, gangliosídeos e lactosil sulfatídeos, constituem compostos encontrados nas partes edíveis de certas vísceras por vezes usadas na alimentação como cérebros, rins, fígados, pâncreas e baços. Estes compostos são degradados libertando galactose ⁽⁶⁹⁾.

Todavia, se a galactose livre apresenta uma biodisponibilidade elevada, a contida nas fracções ligadas estará dependente da acção das enzimas específicas para a degradação desses compostos. As α -galactosidases encontram-se nos tecidos humanos e serão provavelmente responsáveis pela degradação dos galactosilcerebrosídeos humanos, bem como dos galactosilsulfatídeos e dos gangliosídeos. Estas α -galactosidases também se encontram distribuídas na maioria, senão em todos, os tecidos das plantas, sendo responsáveis pela digestão das ligações α através das quais a galactose se liga nos diversos compostos, como é o caso da rafinose ^(69,70). Por outro lado, as β -galactosidases são também encontradas em

diversos alimentos, bem como no intestino humano ^(69,70). Estas enzimas digerem não só a lactose mas também compostos com galactose ligada por ligações β -1,4 ^(69,70). Em estudos que tentaram avaliar o grau de importância que compostos como a rafinose e a estaquiose, teriam na biodisponibilização de galactose, observou-se que, doentes cujas dietas eram restritas nestes compostos, apresentavam valores de galactose-1-P eritrocitária mais baixos ⁽⁷³⁾. Estes resultados vêm confirmar a eficácia de actuação das enzimas existentes na parte terminal do nosso intestino ⁽⁷³⁾. Outra constatação prende-se com o facto dos doentes que ingerem grandes quantidades de rafinose e estaquiose, terem normalmente sensação de flatulência, devido à degradação destes compostos pela flora bacteriana ⁽⁷³⁾.

3.7.1.1. TRATAMENTO DIETÉTICO NO RECÉM NASCIDO

O leite humano contém cerca de 6 a 8% de lactose. O leite de vaca contém 3 a 4%, observando-se 7% na maioria das fórmulas comerciais ⁽⁷⁰⁾.

O tratamento dietético no recém nascido consiste na administração de uma fórmula isenta de lactose biodisponível ^(12,15,70,71). Será então preferível o uso de uma fórmula de soja da qual foram retiradas a estaquiose e a rafinose ⁽¹²⁾. Fórmulas com estes compostos na sua composição podem conter até 14mg de galactose por litro ⁽⁷⁰⁾.

A fórmula satisfaz as necessidades nutricionais do recém nascido até aos 4-6 meses, altura em que são introduzidos cereais sob a forma de papas ⁽⁷¹⁾. As papas sem adição de outros constituintes, como leite, são relativamente pobres em galactose livre ⁽⁷¹⁾. Os teores variam de 0.3 a 1.5mg de galactose por 100g de papa ⁽⁷¹⁾. Todavia, a adição comercial de maçã ou banana, bem como de outros frutos, faz subir os valores de galactose livre ⁽⁷¹⁾. Gradualmente, dos 5 aos 8 meses de idade, serão introduzidos os frutos e vegetais ⁽⁷¹⁾. Alguns sumos de frutos para bebés podem conter até 2mg de galactose por 100g ⁽⁷¹⁾. Os teores em água bem como outros ingredientes adicionados

podem fazer variar de algum modo a concentração e o contributo em galactose ⁽⁷¹⁾. Nos vegetais, os teores vão de vestigiais até mais de 50mg de galactose por 100g ⁽⁷¹⁾.

Posto isto, torna-se então imperioso, o conhecimento em termos de composição nutricional, do maior número possível de alimentos disponíveis, para uma determinada população, para que a planificação da dieta seja a mais correcta. Para o efeito, terão de contribuir igualmente os pais, prestando a devida atenção aos rótulos de alimentos, bem como de medicamentos. Atenção especial deverá ser dada às alterações da composição nutricional de alimentos não tornadas públicas, bem como às fontes ocultas de galactose como por exemplo as pastas de dentes ^(12,71).

3.7.1.2. TRATAMENTO DIETÉTICO NO ADULTO

Embora haja a consciência de que será impossível eliminar totalmente a galactose da dieta, este objectivo não poderá ser retirado da nossa mente ⁽⁷¹⁾. Como tal, a dieta deverá ser cumprida da mesma forma, não havendo lugar para liberalizações com o avançar da idade ⁽⁷⁰⁾. Tal é apoiado pelo facto dos indivíduos com GC que se viram privados de alimentos de origem láctea durante largos anos, não apresentarem menores índices de lactase a nível intestinal ⁽¹⁵⁾. Deste modo, durante possíveis "fugas à dieta" a galactose seria biodisponibilizada de modo igualmente eficaz. O não cumprimento da dieta, com o avançar da idade, acarretaria a acumulação de galactose-1-P e de galactitol podendo estes fazer sentir os seus efeitos nefastos a nível dos órgãos alvo. Isto é confirmado pelos resultados de estudos que não evidenciam um aumento da capacidade de metabolizar a galactose com o avançar da idade ⁽¹⁵⁾. Particularmente nos indivíduos do sexo feminino, a dieta nunca deverá perder importância para reduzir as frequentes complicações a nível ovário ⁽⁷⁰⁾.

Para além da questão da restrição em galactose, os níveis de cálcio, nos galactosémicos, devem ser monitorizados. Como já foi referido anteriormente, podem ocorrer casos, nos quais a mineralização óssea não se efectue convenientemente,

necessitando então, estes doentes, de suplementos de cálcio e, eventualmente, de vitamina D ^(53,59,70).

3.7.1.3. TRATAMENTO DIETÉTICO DURANTE A GRAVIDEZ

Uma vez que se pressupunha que os metabolitos tóxicos resultantes da galactose ingerida pela mãe heterozigótica se podiam acumular no feto com GC, as mães eram aconselhadas a fazer alguma restrição em leite, derivados e outros alimentos ricos em galactose, durante a gravidez ⁽¹²⁾. Todavia, sabe-se que, apesar do tratamento dietético, a galactose-1-P e o galactitol se acumulam no feto e no líquido amniótico. Por outro lado, como o próprio feto sintetiza a sua própria galactose a nível endógeno, este não dependerá da mãe para a obtenção deste monossacarídeo tão importante para as suas biosínteses de galactolípidos e galactoproteínas, indispensáveis para a diferenciação celular e para o seu crescimento ⁽¹²⁾. Posto isto, o tratamento dietético durante a gravidez deverá ser implementado, sem que isso acarrete prejuízos para a mãe ou para o feto ⁽¹²⁾.

3.7.2. OUTROS TRATAMENTOS

Por tudo o que foi dito anteriormente, ficam bem patentes as dúvidas e dificuldades do tratamento de um doente com GC.

Muitas sugestões têm sido feitas no sentido de encontrar novos meios para o tratamento. É certo que alguns indivíduos possuem alguma actividade da enzima GALT. Haveria, então, alguma possibilidade de estimular a actividade residual da enzima nesses indivíduos? Há trabalhos onde se relata que doses farmacológicas de ácido fólico ou progesterona, poderão aumentar essa actividade residual ⁽¹¹⁾. A concretizar-se, esta possibilidade já seria uma grande vitória, uma vez que, os indivíduos Negros, a maioria deles portadores da mutação S135L, como têm uma actividade enzimática da ordem dos 10%, conseguiriam metabolizar maiores quantidades de galactose. Deste modo, conseguir-se-ia aumentar o fluxo através da

via metabólica de degradação da galactose, diminuindo a acumulação de galactose-1-P, evitando teores muito baixos de UDP-galactose, os quais constituem possíveis mecanismos através dos quais as complicações se instalam ⁽¹¹⁾.

Relativamente às vias metabólicas alternativas, estas também poderiam ser alvo de uma intervenção. Deste modo, poder-se-ia estimular a produção de galactonato, uma vez que este constitui um metabolito oxidável ⁽¹¹⁾. Por outro lado a diminuição da síntese de galactitol pode ser efectuada através de inibidores da enzima aldose redutase ⁽¹¹⁾. Em estudos experimentais, a prevenção da formação de galactitol tem permitido corrigir a toxicidade deste ⁽¹¹⁾.

A suplementação dos metabolitos alvo de depleção deve igualmente ser considerada. Uma possibilidade seria a administração de altas doses de inositol para colmatar os défices verificados em determinadas situações experimentais. Outra medida poderia estar relacionada com o aumento do nível de UDP-galactose através da administração de uridina ⁽¹¹⁾.

Finalmente, surge a terapêutica genética como meio de substituição do gene mutado. Esta hipótese é colocada, uma vez que, a sequência completa do DNAc e todo o gene já são conhecidos. Faltará saber se, a substituição a nível do fígado, seria suficiente ou, se esta teria de se generalizar a outros tecidos, principalmente o cérebro e os ovários, por forma a impedir a perda das suas funções. Mais estudos necessitam de ser desenvolvidos nesta área para que, da esperança, se passe à realidade ⁽¹¹⁾.

3.7.3. TRATAMENTO NO DÉFICE PARCIAL DA ENZIMA

Ainda não está completamente definido se, os indivíduos com défice parcial da enzima GALT, necessitam realmente de cumprir uma dieta restrita em galactose ⁽¹²⁾.

As direcções de alguns centros de tratamento espalhados pelo mundo apoiam a ideia de que, a todos os recém nascidos rastreados, deve ser dado um leite isento de lactose. No final da primeira semana, é feita uma experiência através da

suplementação de 2 a 3dl de um leite com lactose. Se, mesmo assim, os valores de galactose-1-P eritrocitária se mantiverem inferiores a 2mg/dl com uma aminoacidúria normal, a criança, poderá então regressar a uma alimentação normal ⁽¹²⁾.

Por outro lado, existem outras opiniões que se direccionam no sentido da manutenção dos objectivos do tratamento. Deste modo, a liberdade que eventualmente poderão ter relativamente à dieta estará de acordo com a percentagem de actividade da enzima. Doentes com actividades da enzima GALT da ordem dos 5 a 10% comparativamente ao normal poderão tolerar pequenas quantidades de galactose contida nas carnes musculares, nas frutas e vegetais ⁽⁷⁰⁾.

3.7.4. AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO

Por forma a classificar o êxito do tratamento, normalmente procede-se à avaliação do desenvolvimento psicomotor, da função hepática e visual. A eficácia do tratamento dietético é determinada através das concentrações de galactose-1-P eritrocitária e galactitol urinário ^(70,74). De facto, a determinação da galactose-1-P, é importante, na medida em que permite identificar, as sempre comuns, "fugas" à dieta ⁽¹⁵⁾. Por outro lado, o galactitol continua muito aumentado nos doentes com GC, mesmo nos que cumprem rigorosamente as suas dietas ⁽¹⁵⁾. Como tal, a correlação entre os níveis de galactose-1-P eritrocitária e a excreção de galactitol na urina é baixa ⁽¹⁵⁾. Por outro lado, verificam-se grandes variações intraindividuais que dificultam as interpretações em grupos ⁽⁷⁴⁾. O uso da hemoglobina galactosilada A₁ como um indicativo do controlo do tratamento dietético tem sido sugerido, embora constitua um método menos sensível resultante de um teste indirecto ⁽⁷⁰⁾.

3.8. PROGNÓSTICO

Até à data, a intervenção nutricional parece constituir o principal meio de tratamento destes doentes.

Muitas têm sido as questões e dúvidas colocadas no que diz respeito à eficácia da terapêutica dietética nesta Doença Hereditária do Metabolismo. Todavia, não nos esqueçamos que, a maioria dos estudos realizados com grupos de indivíduos com GC, são retrospectivos. Antes de ser apontado o dedo à ineficácia do tratamento dietético, deverão entretanto ser feitos mais estudos, mas agora, prospectivos, pois nada garante que até aqui, os resultados negativos, que sistematicamente são encontrados, não tenham sido devidos a uma escolha infeliz dos doentes ⁽¹²⁾.

4. CONCLUSÃO

A Galactosemia Clássica é um enigma.

Inicialmente, aquando da realização dos primeiros estudos, sempre se pensou que, com a remoção da galactose da dieta o problema ficaria resolvido. Todavia, passadas algumas dezenas de anos, com inúmeros estudos realizados, constata-se que a doença exige mais atenção. Trata-se de uma doença degenerativa, de afectação sistémica, cujos meios para controlar a sua evolução ainda não se encontram totalmente esclarecidos.

Como este, outros erros inatos do metabolismo, causam entre nós, um sentimento de pequenez e revolta. Contudo, não vamos nós cair também no erro, não inato, mas adquirido, de, volto a frisar, desrespeitar a doença.

Enquanto a ciência avança e as respostas a muitas das questões que deixamos expressas no texto que elaboramos forem sendo dadas, importa lembrar com *Gitzelman*,

*"Whenever you consider a galactose disorder,
stop milk feeding first
and only then
seek a diagnosis!"*

BIBLIOGRAFIA

1. Stryer L. (1995) "Carbohydrates" in, Stryer L, Biochemistry. New York. W.H. Freeman and Company.
2. Southgate DAT. (1999) "Carbohydrates" in, Sadler MJ, Strain JJ, Caballero B, Encyclopedia of Human Nutrition. London. Academic Press.
3. Ettinger S. (2000) "Macronutrients: Carbohydrates, Proteins and Lipids" in, Kathleen Mahan L, Escott-Stump S. Krause's Food Nutrition & Diet Therapy. Philadelphia. W.B. Saunders Company.
4. Feldman M, Sleisenger MH, Scharschmidt BF. (1998) "Digestion and Absorption of Nutrients and Vitamins" in Feldman M, Sleisenger MH, Scharschmidt BF, Gastrointestinal and Liver Disease. Philadelphia. W.B. Saunders Company.
5. Vander AJ, Sherman JH, Luciano DS. (1994) "The Digestion and Absorption of Food" in Vander AJ, Sherman JH, Luciano DS, Human Physiology. Mc Graw-Hill, Inc.
6. Beyer PL. (2000) "Digestion, Absorption, Transport, and Excretion of Nutrients" in, Kathleen Mahan L, Escott-Stump S. Krause's Food Nutrition & Diet Therapy. Philadelphia. W.B. Saunders Company.
7. Levin JR (1999) "Carbohydrates" in, Shils ME, Modern Nutrition in Health and Disease. Baltimore. Williams & Wilkins.
8. Abi-Hanna A, Saavedra JM. (1999) "Galactose" in, Sadler MJ, Strain JJ, Caballero B, Encyclopedia of Human Nutrition. London. Academic Press.
9. Feldman M, Sleisenger MH, Scharschmidt BF. (1998) "Liver" in Feldman M, Sleisenger MH, Scharschmidt BF, Gastrointestinal and Liver Disease. Philadelphia. W.B. Saunders Company.
10. Stryer L. (1995) "Glycolysis" in, Stryer L, Biochemistry. New York. W.H. Freeman and Company.

11. Segal S. (1995) "Galactosemia unsolved". *European Journal of Pediatrics*. (154[S2]): S97-S102.
12. Gitzelman R. (2000) "Disorders of Galactose Metabolism" in Fernandes J, Saudubray JM, Berghe G, *Inborn Metabolic Diseases*. Berlin. Springer Verlag.
13. Hsia DY. (1967) "Clinical Variants of Galactosemia". *Metabolism*. (16):419-37.
14. Holton JB. (1990) "Galactose Disorders: an Overview". *Journal of Inherited Metabolic Diseases*. (13):476-86.
15. Segal S, Berry GT. (1995) "Disorders of Galactose Metabolism" in, Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. New York. McGraw-Hill, Inc.
16. <http://www.meadjohnson.com/metabolics/galactosemia.html> "Galactosemia" (29 de Outubro de 2000)
17. Alano A, et al. (1998) "Molecular characterization of a unique patient with epimerase-deficiency galactosaemia". *Journal of Inherited Metabolic Diseases*. (21):341-50.
18. <http://www.nichd.nih.gov/publications/pubs/galactosemia/galactosemia.htm> "Clinical Aspects and Historical Perspectives of Galactosemia" (30 de Setembro de 2000).
19. <http://www.nichd.nih.gov/publications/pubs/galactosemia/galactosemia.htm> "Long-Term Prognosis in Galactosemia: Results of a Survey of 350 Cases" (30 de Setembro de 2000).
20. Zekanowski C, Radomska B, Bal J. (1999) "Molecular characterization of Polish patients with classical galactosemia". *Journal of Inherited Metabolic Diseases*. (22): 679-82.
21. Geeganage S, Frey PA. (1998) "Transient Kinetics of Formation and Reaction of the Uridyl-Enzyme Form of Galactose-1-P Uridyltransferase and Its Q168R-Variant: Insight into the Molecular Basis of Galactosemia". *Biochemistry*. (37):14500-7.

22. Shin YS, Zschocke J, Das AM, Podskarbi T.(1999)"Molecular and biochemical basis for variants and deficiency forms of galactose-1-phosphate uridylyltransferase".Journal of Inherited Metabolic Diseases.(22):327-9.

23. Shin YS, et al.(1998)"Duarte-1 (Los Angeles) and Duarte-2 (Duarte) variants in Germany:Two new mutatiois in the GALT gene which cause a GALT activity decrease by 40-50% of normal in red cells".Journal of Inherited Metabolic Diseases.(21):232-5.

24. Landt M, et al.(1997)"Black children deficient in galactose-1-phosphate uridylyltransferase:Correlation of activity and immunoreactive protein in erythrocytes and leukocytes".The Journal of Pediatrics.130.(6):972-80.

25. Elsas LJ, et al.(1995)"A molecular approach to galactosemia".The European Journal of Pediatrics.(154[S2]):S21-S27.

26. Manga N, et al.(1999)"The molecular basis of transferase galactosaemia in South African negroids".Journal of Inherited Metabolic Diseases.(22):37-42.

27. Lai K, et al.(1996)"A prevalent mutation for galactosemia among black Americans".The Journal of Pediatrics".128.(1):89-95.

28. Gitzelmann R, Bosshard NU.(1995)"Parcial deficiency of galactose-1-phosphate uridylyltransferase".European Journal of Pediatrics.(154[S2]):S40-S44.

29. Chen YT.(2000)"Defects in Metabolism of Carbohydrates" in Behrman, Kliegman, Jenson, Nelson Textbook of Pediatrics.W.B.Saunders Company.

30. Jakobs C, Schweitzer S, Dorland B.(1995)"Galactitol in galactosemia".European Journal of Pediatrics.(154[S2]):S50-S52.

31. Segal S.(1998)"Galactosemia today:The enigma and the challenge".Journal of Inherited Metabolic Diseases.(21):455-471.

32. Berry GT, et al.(1997)"Quantitative assessment of whole body galactose metabolism in galactosemic patients".European Journal of Pediatrics.156[S1]):S43-S49.

33. Berry GT, et al.(1998)"Elevation of Erythrocyte Redox Potencial Linked to Galactonate Biosynthesis:Elimination by Tolrestat".Metabolism.47.(11):1423-8.
34. Palmieri M, et al.(1999)"Urine and Plasma Galactitol in Patients With Galactose-1-Phosphate Uridyltransferase Deficiency Galactosemia".Metabolism.48.(10):1294-302.
35. Wehrli SL, et al.(1997)"Urinary Galactonate in Patients with Galactosemia: Quantitation by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy".Pediatric Research.42.(6):855-61.
36. Berry GT, et al.(1995)"Endogenous synthesis of galactose in normal men and patients with hereditary galactosemia".The Lancet.346.(21):1073-4.
37. Berry GT, et al.(1992)"Red Blood Cell Uridine Sugar Nucleotide Levels in Patients With Classic Galactosemia and Other Metabolic Disorders".Metabolism.41.(7):783-7.
38. Gitzelmann R, et al.(1995)"Galactose-1-phosphate in the pathophysiology of galactosemia".European Journal of Pediatrics.(154[S2]):S45-S49.
39. Segal S.(1995)"Defective galactosylation in galactosemia: is low cell UDPgalactose an explanation?".European Journal of Pediatrics.(154[S2]):S65-S71.
40. Stibler H, et al.(1997)"Carbohydrate-deficient transferrin in galactosemia".Acta Paediatrica.(86):1377-8.
41. Kirkman HN.(1995)"Measurements of uridine diphosphate glucose and uridine diphosphate galactose – an appraisal".European Journal of Pediatrics.(154[S2]): S72-S74.
42. Holton JB.(1995)"Effects of galactosemia in utero".European Journal of Pediatrics.(154[S1]):S77-S81.
43. Segal S.(1995)"In utero galactose intoxication in animals".European Journal of Pediatrics.(154[S2]):S82-S86.
44. Shin YS.(1995)"Nucleotide sugars: determination of cellular levels and discrepancies in results".European Journal of Pediatrics.(154[S2]):S75-S76.

45. Heidenreich RA.(1995)"Regulation of galactose 1-phosphate uridylyltransferase gene expression".European Journal of Pediatrics.(154[S2]):S28-S32.
46. Moller HE, et al.(1995)"In vivo study brain metabolism in galactosemia by ^1H and ^{31}P magnetic resonance spectroscopy".European Journal of Pediatrics.(154[S2]): S8-S13.
47. Kaufman FR, et al.(1995)"Cognitive functioning neurologic status and brain imaging in classical galactosemia".European Journal of Pediatrics.(154[S2]):S2-S5.
- 48.Hansen TWR, et al.(1996)"Neuropsychological and linguistic follow-up studies of children with galactosemia from an unscreened population".Acta Paediatrica.(85): 1197-201.
49. Nelson D.(1995)"Verbal dyspraxia in children with galactosemia".European Journal of Pediatrics.(154[S2]):S6-S7.
- 50.Levy HL, et al.(1996)"Vitreous hemorrhage as an ophthalmic complication of galactosemia".The Journal of Pediatrics.129.(6):922-5.
- 51.Ning C, et al.(2000)"Galactose Metabolism by the Mouse with Galactose-1-Phosphate Uridyltransferase Deficiency".Pediatric Research.(48):211-7.
- 52.Valk HW, et al.(1999)"Osteoporosis in adult patients with galactosaemia".Journal of Inherited Metabolic Diseases.(22[S1]):133.(Abstract).
- 53.Baldellou A, et al.(1999)"Protocolo para el diagnóstico y el tratamiento de los errores congénitos del metabolismo de la galactosa" in, Alonso JR, et al, Errores Innatos del Metabolismo 2000.Universidad de Santiago de Compostela.Servicio de Publicacións e Intercambio Científico.
54. Gibson JB.(1995)"Gonadal function in galactosemics and in galactose-intoxicated animals".European Journal of Pediatrics.(154[S2]):S14-S20.
55. Walter JH.(2000)"Inborn errors of metabolism and pregnancy".Journal of Inherited Metabolic Diseases.(23):229-36.

56. Prestoz LLC, et al.(1997)"Altered Follicle Stimulating Hormone Isoforms in Female Galactosaemia Patients".European Journal of Pediatrics.(156):116-20.

57.Epstein FH, et al.(1999)"Single-Gene Mutations Resulting in Reproductive Dysfunction in Women".The New England Journal of Medicine.340.(9):709-18.

58. Steinmann B, et al.(1981)"Hypogonadism and Galactosemia".The New England Journal of Medicine.305.(8):464-5.

59. Renner C, et al.(1999)"Hormone replacement therapy in galactosaemic twins with ovarian failure and severe osteoporosis".Journal of Inherited Metabolic Diseases.(22):194-5.

60. Jongh S, et al.(1999)"Spontaneous pregnancy in a patient with classical galactosemia".Journal of Inherited Metabolic Diseases.(22):754-5.

61. Ruiz M, et al.(1999)"Galactosemia presenting as congenital pseudoafibrinogenaemia".Journal of Inherited Metabolic Diseases.(22):943-4.

62. Levy HL, et al.(1977)"Sepsis due to *Escherichia coli* in neonates with galactosemia".The New England Journal of Medicine.297.(15):823-5.

63.Shinka T, et al.(1999)"Urine screening of five-day-old newborns: metabolic profiling of neonatal galactosuria".Journal Chromatography B. Biomedical Science Applied.732.(2):469-77.(Abstract)

64.Schweitzer S.(1995)"Newborn mass screening for galactosemia".European Journal of Pediatrics.(154[S2]):S37-S39.

65.Fugimoto A, et al.(2000)"Quantitative Beutler Test for Newborn Mass Screening of Galactosemia Using a Fluorimetric Microplate Reader".Clinical Chemistry.46.(6):806-10.

66.Reed W, et al.(2000)"Sickle-cell disease not identified by newborn screening because of prior transfusion".The Journal of Pediatrics.136.(2):248-50.

67.Jakobs C, et al.(1995)"Prenatal diagnosis of galactosemia".European Journal of Pediatrics.(154[S2]):S33-S36.

68.Allen RJ.(1995)"Window in clouds over galactosemia?".The Lancet.345:128.

69.Acosta PB, Gross KC.(1995)"Hidden sources of galactose in the environment".European Journal of Pediatrics.(154[S2]):S87-S92.

70.Acosta PB, Elsas LJ.(1999)"Nutritional Support of Inherited Metabolic Disease" in, Shils ME, Modern Nutrition in Health and Disease. Baltimore.Williams & Wilkins.

71.Gropper SS, et al.(2000)"Free galactose content of fresh fruits and strained fruit and vegetable baby foods: More foods to consider for the galactose-restricted diet".Journal of The American Dietetic Association.100.(5):573-5.

72.Gross KC, Acosta PB.(1991)"Fruits and Vegetables are a Source of Galactose: Implications in Planning the Diets of Patients with Galactosemia".Journal of Inherited Metabolic Diseases.(14):253-8.

73.Wiesmann UN, et al.(1995)"*Leguminosae* in the diet: the raffinose-stachyose question".European Journal of Pediatrics.(154[S2]):S93-S96.

74.Hutchesson ACJ, et al.(1999)"Biochemical monitoring of treatment for galactosaemia: Biological variability in metabolite concentrations".Journal of Inherited Metabolic Diseases.(22):139-48.