

BACKGROUND

La Galattosio-1-fosfato uridililtransferasi (*GALT*) è il terzo enzima nel pathway metabolico di Leloir, responsabile del catabolismo del galattosio (Figura 1) (Kotb et al. 2019, Int J Gen Med; Holden et al. 2003, J Biol Chem). Varianti patogenetiche nel gene *GALT* causano deficit enzimatico e galattosemia (OMIM #230400), un errore congenito del metabolismo.

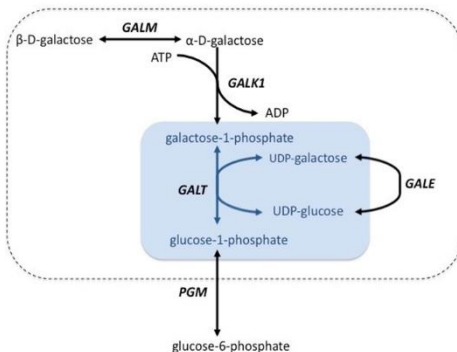


Figura 1. Via di Leloir
(<https://www.thesgc.org/tep/galtgalk1>).

CASO CLINICO

Neonata positiva allo screening neonatale:

- ❑ Galattosio totale: 27,2 mg/dl (normale <10)
- ❑ Attività *GALT*: 1,8 U/gHb (normale >4,4)
- ❑ Eterozigote per la sola variante patogenetica di *GALT* c.855G>T p.(Lys285Asn) paterna (sequenziamento Sanger presso altro lab)
- ❑ Attività *GALT* normale nei genitori



Figura 2. <https://www.osservatorioscreening.it/>.

METODI

- ❑ Targeted-resequencing NGS dei geni *GALT*, *GALK1* e *GALE* con Nextera DNA Flex Library Preparation Kit e sequenziamento Paired-End 150 bp su piattaforma MiSeq (Illumina)

- ❑ Sequenziamento Sanger del gene *GALM*

- ❑ Analisi mRNA *GALT* da sangue intero nel trio familiare

RISULTATI

- ✓ No varianti patogenetiche nei geni *GALK1* o *GALE*
- ✓ No delezioni o duplicazioni in *GALT*, *GALK1* o *GALE*
- ✓ Eterozigosi per la variante patogenetica di *GALT* c.855G>T p.(Lys285Asn) nella probanda e nel padre

→ Eterozigosi per la nuova variante intronica profonda rara nel gene *GALT* c.508-26C>G nella probanda e nella madre

Eterozigosi composta:
***GALT*:c.855G>T**
***GALT*:c.508-26C>G**

- ✓ No varianti patogenetiche

→ Tutte le reazioni di PCR su cDNA comprendenti gli esoni 5 e 6 producevano un extra-amplicone solo nella probanda e nella madre. Al sequenziamento risultava essere un trascritto aberrante con 67bp inattese tra gli esoni 5 e 6 e corrispondenti a parte dell'introne 5 di *GALT*. Tale inserzione causa frameshift con codone di terminazione prematuro p.(Ile170Glyfs25*) e contiene il nucleotide mutato nella posizione c.508-26C>G (Figura 3)

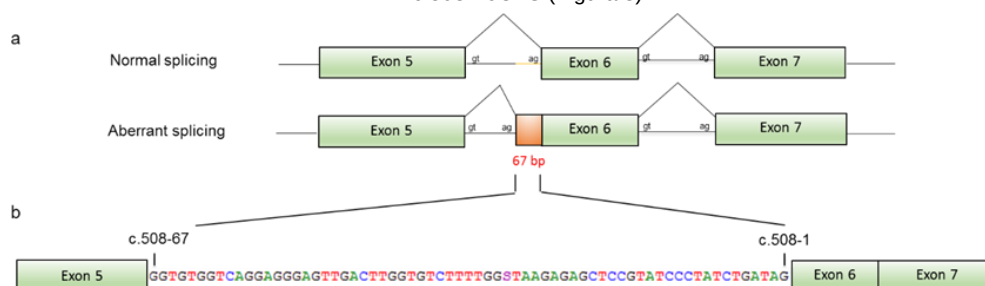


Figura 3. Splicing aberrante causato dalla variante *GALT*:c.508-26C>G. **a.** Rappresentazione schematica dello splicing normale e aberrante. **b.** Sequenza dell'mRNA aberrante ed effetto sulla proteina.

DISCUSSIONE

La nuova variante intronica profonda c.508-26C>G p.(Ile170Glyfs25*) causa alterazione dello splicing del gene *GALT* ed elevati livelli di galattosio allo SNE se allo stato di eterozigosi composta con un'altra variante patogenetica di *GALT*. Ulteriori analisi saranno necessarie per valutare l'impatto clinico di questa nuova variante sul regime dietetico della paziente e sulla progressione della malattia.