

Galactosemias

Citation for published version (APA):

Derks, B. (2024). *Galactosemias: Lessons from the GalNet registry, state of the art fertility insights, and exploring new treatments*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.20240119bd>

Document status and date:

Published: 01/01/2024

DOI:

[10.26481/dis.20240119bd](https://doi.org/10.26481/dis.20240119bd)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.



SUMMARY



Galactosemias is a group of inherited disorders characterized by an aberrant cellular galactose metabolism. Depending on the affected step in the galactose metabolism pathway, patients show a broad phenotypic spectrum and experience a high burden of disease. Galactosemia type I, also known as classic galactosemia (CG), is the most well-studied type of the different galactosemias. The standard of care, a lifelong galactose-restricted diet, fails to prevent the occurrence of long-term complications affecting female gonads, brain and bone. Galactosemia II and III, respectively known as galactokinase (GALK1) and galactose epimerase (GALE) deficiency, are less well delineated entities and their true phenotypic spectrum is questionable. In **chapter 1**, we present an overview of the different types of galactosemias, elaborate on the pathophysiology and current knowledge gaps, and introduce the objectives of this dissertation. The presented work in this dissertation aims (**part I**) to describe the natural history of galactosemia type II and III, (**part II**) to review the state of the art insights in the hypergonadotropic hypogonadism condundrum of CG and to provide novel insights in the pathophysiology of primary ovarian insufficiency (POI) using a *galt* knockout (KO) zebrafish, and (**part III**) to explore new treatment options for CG.

In 2012, the galactosemia network (GalNet) was founded and established by the coordinating center MUMC+ (Maastricht University Medical Center+). The implementation of the GalNet registry enabled data collection of patients with galactosemia type I, II and III worldwide. In **part I (chapter 2 – 4)** we evaluate the natural history of galactosemia type II and III. **Chapter 2** describes the phenotypic spectrum of 53 not previously described GALK1 deficient patients from 11 countries and 17 different centers worldwide. Due to the description of other manifestations rather than bilateral cataract, there is controversy about the true phenotypic spectrum of GALK1 deficiency. However, it is questionable which symptoms are truly related to GALK1 deficiency and not to other genetic, epigenetic or environmental factors. In the newly 53 described patients, the phenotypic spectrum includes neonatal elevation of transaminases, bleeding diathesis, and encephalopathy in addition to bilateral cataract. Newborn screening (NBS) is a predictive factor in early onset of the galactose-restricted diet, and subsequently associated with a decreased occurrence of bilateral cataract. The lack of follow-up in most patients exemplifies the need for standardized patient of care. Therefore, clinical

recommendations for additional testing in patients with complications beyond the neonatal period other than cataract as well as the management of GALK1 deficient patients are formulated. In **chapter 3**, we perform a whole-body galactose breath test in a GALK1 deficient patient. Whole-body galactose breath test are efficient to assess the *in vivo* galactose metabolism and reflect the patients' ability to oxidize galactose. In contrast to the only breath testing in a GALK1 patient previously published, we find normal whole body galactose oxidation. However, due to inability to perform additional genetic testing in the patient, the presence of other genetic diseases responsible for the patients' phenotype is not ruled out.

Chapter 4 describes the natural history of 22 not previously described GALE deficient patients from 9 countries and 14 different centers. Due to scarce data and the high rate of consanguinity, the true phenotypic spectrum of GALE deficiency is unknown. The implementation of GALE deficiency in the NBS for galactosemias urges a better classification in one of the three subtypes (peripheral, intermediate or generalized GALE deficiency) and needs standardized clinical guidelines regarding galactose-restricted diet and follow-up. At present, patients with a peripheral GALE deficiency are being treated while this is not needed. Next to additional genetic tests, glycosylation studies as serum transferrin could be a valuable tool to classify GALE deficient patients and to distinguish between patients who need dietary intervention (generalized and intermediate) versus who do not (peripheral).

The majority (80%) of female CG patients suffers from POI, which is considered as one of the most burdensome complications in CG. Despite decades of research, the exact underlying pathophysiology and biomarkers to predict disease progression are not yet delineated. In **part II (chapter 5 & 6)** we evaluate the hypergonadotropic conundrum of CG. In **chapter 5**, together with a multidisciplinary team with different experts in this field, we review the clinical picture, counseling paradigm and current treatment options. In addition, we provide insights in the current knowledge on the potential molecular processes underlying the development of POI in CG patients. Based on animal models and human data of CG patients, evidence exists for impaired folliculogenesis beginning at young ages, resulting in POI. In **chapter 6**, we aim to reproduce these findings in our

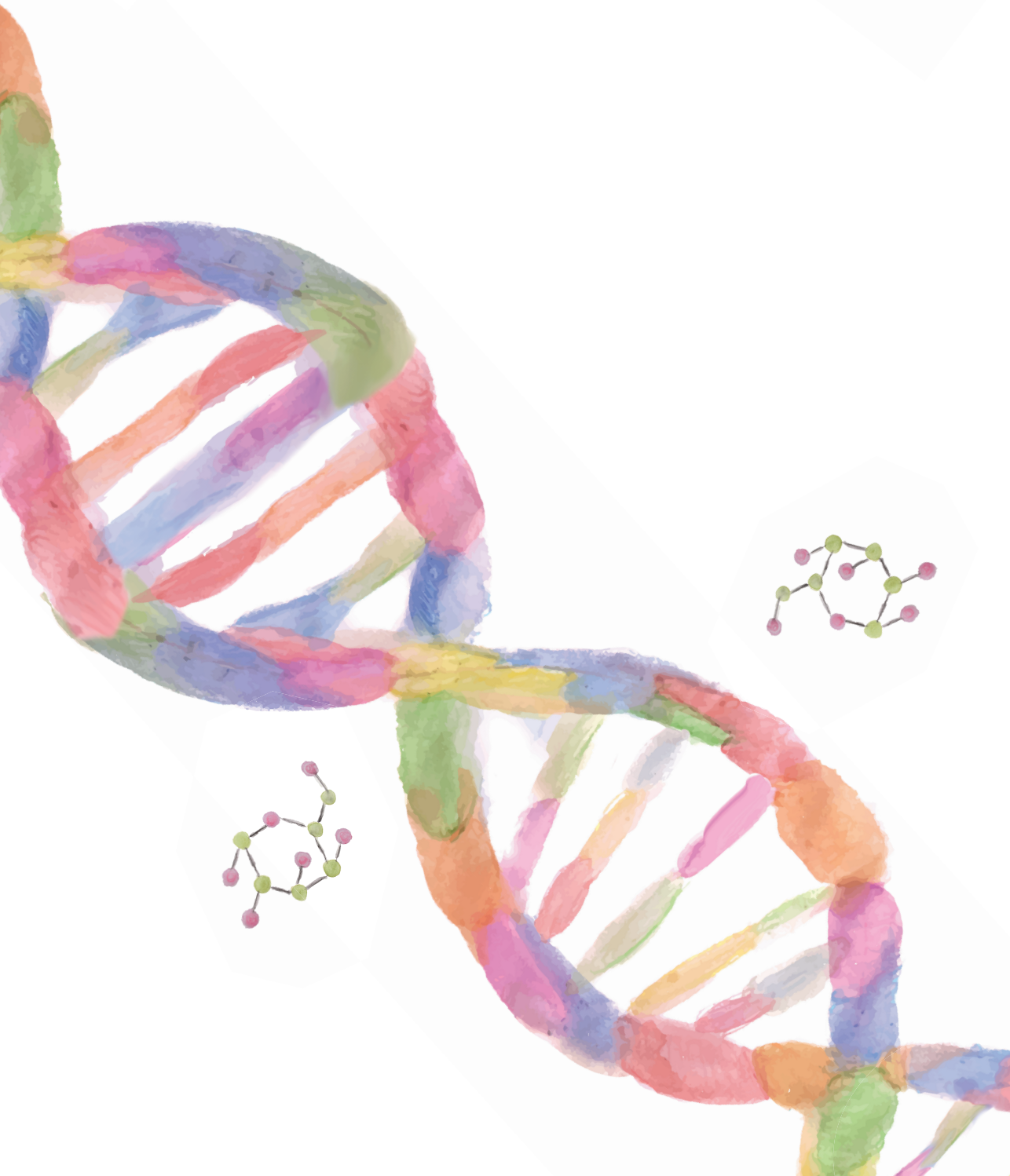
zebrafish model by using new techniques available nowadays. We perform a pilot transcriptomic study in female gonadal tissue of *galt* KO and wildtype (WT) zebrafish. Two pathways are altered in the *galt* KO compared to the WT zebrafish, namely insulin signaling pathway and ubiquitin mediated proteolysis. Both pathways are involved in normal folliculogenesis and oocyte maturation, thus supporting the hypothesis of impaired folliculogenesis being an important mechanism in the pathophysiology of POI.

The high burden of disease and occurrence of long-term complications despite a life-long galactose-restricted diet in CG urge the development of new therapeutic strategies. In **part III (chapter 7 & 8)** we explore two novel treatment options, one directly affecting the enzymatic GALT deficiency (arginine) and one influencing the clinical picture of CG patients (transcranial Alternating Current Stimulation (tACS)). In **chapter 7**, we explore arginine as pharmacological chaperone to rescue the GALT activity in 4 patients homozygous for NM_000155: c.536A>G (p.Gln188Arg). Chemical and pharmacological chaperones have been postulated as effective in rescuing the enzyme's conformational changes. In a prokaryotic model of galactose sensitivity, arginine showed a functional improvement of the variant NM_000155: c.536A>G (p.Gln188Arg). Our results show that arginine is not beneficial in patients homozygous for NM_000155: c.536A>G (p.Gln188Arg). However, this does not preclude that arginine is not beneficial in CG patients with other pathogenic variants solely resulting in conformational changes of the enzyme protein.

Next to the female gonads, the brain is one of the major organs affected in CG patients (85%), resulting in cognitive and neurological complications including language and speech disorders. These complications have been related to anatomical and functional differences in CG patients compared to healthy controls. Functionally, differences in the event-related potentials (P100, P200, P300) have been observed in the recorded electroencephalograms (EEG) of CG patients compared to healthy controls during language production. Recently, the oscillatory profile related to sentence planning of CG patients is compared to healthy controls and revealed differences in the theta-alpha range. Theta frequency (5-8 Hz) is suggested as promotor of the P300 and plays a major role in the working memory and executive control during language production. Therefore, in **chapter 8**, we explore the potential therapeutic effect of tACS in theta frequency on the language performance in CG

Summary

patients compared to healthy controls. We observe a significant reduction in the naming error in the patient group during theta-tACS only. In addition, we find a significant long-lasting pre-post theta-effect in the patient group. These results show that theta-tACS can influence the linguistic planning and working memory in CG patients and are promising in the journey to find a treatment to improve the language performance in CG patients. Further research is warranted to investigate the clinical relevance and usefulness. Finally, in **chapter 9**, the results obtained in this dissertation are discussed and directions for further research are outlined.



SAMENVATTING



Galactosemie is een groep van zeldzame erfelijke aandoeningen van het galactose metabolisme. Afhankelijk van het deficiënte enzym betrokken in het galactose metabolisme, vertonen patiënten een breed scala aan symptomen en ervaren ze een hoge ziektelast. Galactosemie type I, ook wel bekend als klassieke galactosemie, is het meest onderzochte type van de verschillende galactosemieën. De standaardbehandeling, een levenslang galactosebeperkt dieet, voorkomt niet het optreden van langer termijn complicaties in de hersenen, botten en vrouwelijke geslachtsorganen. Galactosemie type II en III, respectievelijk bekend als galactokinase (GALK1) en galactose epimerase (GALE) deficiëntie, zijn minder goed onderzochte ziektebeelden en hun ware fenotypische spectrum is nog onbekend. In **hoofdstuk 1** presenteren we een overzicht van de verschillende galactosemie types, gaan we in op de achterliggende pathofysiologie, benadrukken we de huidige kennislacunes en introduceren we de doelstellingen van dit proefschrift. Het gepresenteerde werk in dit proefschrift is gericht op (**deel I**) het beschrijven van het natuurlijke beloop van galactosemie type II en III, (**deel II**) het bespreken van de huidige inzichten in het hypogonadotroop hypogonadisme raadsel van patiënten met klassieke galactosemie en het presenteren van nieuwe inzichten in de pathofysiologie van primaire ovariële insufficiëntie (POI) middels ons *galt* knockout zebrafishmodel, en (**deel III**) het verkennen van nieuwe behandelingsopties voor patiënten met klassieke galactosemie.

In 2012 werd het galactosemienetwerk (GalNet) opgericht door ons coördinerende centrum MUMC+ (Maastricht Universitair Medisch Centrum+). De implementatie van het GalNet register maakt het mogelijk om wereldwijd gegevens van patiënten met galactosemie type I, II en III te verzamelen. In **deel II (hoofdstuk 2 – 4)** evalueren we het natuurlijk beloop van galactosemie type II en III. **Hoofdstuk 2** beschrijft het fenotypische spectrum van 53 niet eerder beschreven GALK1 deficiënte patiënten afkomstig uit 11 verschillende landen en 17 verschillende centra wereldwijd. Doordat er naast bilaterale cataract ook nog andere symptomen beschrijven zijn in de literatuur, is er onduidelijkheid over het ware fenotypische spectrum van GALK1 deficiëntie. Het is echter de vraag welke symptomen echt gerelateerd zijn aan GALK1 deficiëntie en niet het gevolg zijn van andere genetische, epigenetische of omgevingsfactoren. Het fenotypische spectrum van de 53 nieuwe GALK1 deficiënte patiënten bevat naast bilaterale cataract ook verhoging van

leverwaardes, bloedingsneiging en encefalopathie in de neonatale periode. Het screenen op GALK1 deficiëntie middels de hieprikscreening is een voorspellende factor voor het vroeg beginnen met het galactosebeperkte dieet en is geassocieerd met het verminderd optreden van bilaterale cataract. Het gebrek aan follow-up bij de meeste patiënten illustreert de behoefte naar gestandaardiseerde zorg voor deze groep patiënten. Daarom beschrijven we klinische aanbevelingen voor aanvullend onderzoek bij GALK1 deficiënte patiënten met andere complicaties dan cataract na de neonatale periode en voor het management van deze patiënten. In **hoofdstuk 3** voeren we een galactose-ademtest uit in een patiënt met GALK1 deficiëntie. Galactose-ademtesten zijn efficiënt om het galactose metabolisme *in vivo* te meten en om het vermogen van de patiënt om galactose te oxideren te beoordelen. In tegenstelling tot de ademtestresultaten in de eerder beschreven GALK1-deficiënte patiënt, vinden wij een normale galactose-oxidatie in onze GALK1-deficiënte patiënt. Echter, doordat er geen aanvullende genetische testen uitgevoerd konden worden bij de patiënt, hebben we de aanwezigheid van andere genetische aandoeningen verantwoordelijk voor haar fenotype, niet kunnen uitsluiten.

Hoofdstuk 4 beschrijft het natuurlijk beloop van 22 niet eerder beschreven GALE deficiënte patiënten uit 9 verschillende landen en 14 verschillende centra. Door de schaarse aan informatie en de hoge mate van consanguïniteit, is het ware fenotypische spectrum van GALE-deficiëntie onbekend. De implementatie van GALE-deficiëntie in de hieprikscreening vraagt om een betere classificatie in een van de drie subtypes (perifere, intermediaire of gegeneraliseerde GALE-deficiëntie) en behoeft gestandaardiseerde richtlijnen met betrekking tot het galactosebeperkte dieet en de klinische follow-up. Op dit moment worden patiënten met een perifere GALE-deficiëntie behandeld, terwijl dit niet nodig is. Naast aanvullende genetische testen zouden glycosyleringsonderzoeken, zoals serumtransferrine, een waardevol hulpmiddel kunnen zijn om GALE-deficiënte patiënten te classificeren en om onderscheid te maken tussen patiënten die een dieetinterventie nodig hebben (gegeneraliseerd en intermediair) en patiënten die dat niet nodig hebben (perifeer).

De meerderheid (80%) van de vrouwelijke patiënten met klassieke galactosemie lijdt aan POI. POI wordt dan ook beschouwd als een van de meest ziekte-belastende complicaties

van klassieke galactosemie. Ondanks jaren aan onderzoek zijn de precieze onderliggende pathofysiologie en biomarkers om ziekteprogressie te voorspellen nog niet gedefinieerd. In **deel II (hoofdstuk 5 & 6)** evalueren we het hypergonadotrope hypogonadisme raadsel van klassieke galactosemie. In **hoofdstuk 5** bespreken we, samen met een multidisciplinair team bestaande uit verschillende experts op dit gebied, het klinische beeld, de klinische consultering en de huidige behandelingsopties voor POI. Daarnaast geven we inzicht in de huidige kennis over de mogelijke moleculaire processen die ten grondslag liggen aan de ontwikkeling van POI bij vrouwelijke patiënten met klassieke galactosemie. Gebaseerd op diermodellen en humane gegevens, zijn er aanwijzingen voor een verminderde folliculogenese die al op jonge leeftijd begint en uiteindelijk resulteert in POI. In **hoofdstuk 6** proberen we deze bevindingen te reproduceren in ons zebravismodel door gebruik te maken van nieuwe technieken. We verrichten een pilot transcriptomics studie in de ovaria van vrouwelijke *galt* knockout en wildtype zebravissen. Ten opzichte van de wildtype zebravissen, zijn er in de *galt* knockout zebravissen twee routes aangedaan, namelijk de insuline signaleringsroute en de ubiquitine gemedieerde proteolyse. Beide routes zijn betrokken in de normale folliculogenese en eicelrijping, wat de hypothese ondersteunt dat een verminderde folliculogenese een belangrijk mechanisme in de pathofysiologie van POI is.

De hoge ziektelast en het optreden van langer termijn complicaties ondanks een levenslang galactosebeperkt dieet bij patiënten met klassieke galactosemie, vraagt naar de ontwikkeling van nieuwe behandelingsopties. In **deel III (hoofdstuk 7 & 8)** verkennen we twee nieuwe behandelingsopties, één die direct ingrijpt op de enzymatische GALT-deficiëntie (arginine) en één die het klinische beeld van klassieke galactosemie patiënten beïnvloedt (transcraniële wisselstroomstimulatie (tACS)). In **hoofdstuk 7** onderzoeken we het therapeutische effect van arginine (een chaperone) in 4 patiënten die homozygoot zijn voor NM_000155: c.536A>G (p.Gln188Arg). Chemische en farmacologische chaperones zijn verondersteld effectief te zijn in het redden van enzymatische conformatieveranderingen. Een prokaryotisch model laat zien dat arginine leidt tot een functionele verbetering van de variant NM_000155: c.536A>G (p.Gln188Arg). Onze resultaten tonen echter aan dat arginine geen therapeutisch effect heeft bij patiënten die homozygoot zijn voor NM_000155: c.536A>G (p.Gln188Arg). Dit sluit echter niet uit dat

arginine geen gunstig therapeutisch effect kan hebben bij patiënten met klassieke galactosemie veroorzaakt door andere pathogene varianten, die uitsluitend resulteren in conformationele veranderingen van het GALT-enzym.

Naast de vrouwelijke geslachtsorganen, zijn de hersenen een van de belangrijkste organen (85%) die op de langer termijn aangetast worden bij patiënten met klassieke galactosemie. Dit resulteert in cognitieve en neurologische complicaties, zoals taal- en spraakstoornissen. Deze complicaties zijn gerelateerd aan anatomische en functionele verschillen bij patiënten met klassieke galactosemie in vergelijking met gezonde controles. Tijdens de taalproductie zijn er functionele verschillen op de elektro-encefalogrammen (EEG) waargenomen in de *event-related potentials* (ERPs) (P100, P200, P300) van patiënten met klassieke galactosemie vergeleken met gezonde controles. Recentelijk is het oscillatoire profiel met betrekking tot de syntactische planning van patiënten met klassieke galactosemie vergeleken met gezonde controles en zijn er verschillen waargenomen in de theta-alfa range. De theta-frequentie (5-8 Hz) wordt beschouwd als een promotor van de P300, speelt een belangrijke rol in het werkgeheugen en heeft een executieve controlerende functie tijdens de taalproductie. Daarom onderzoeken we in **hoofdstuk 8** het potentiële therapeutische effect van tACS in theta-frequentie op de taalprestaties van patiënten met klassieke galactosemie vergeleken met gezonde controles. In de patiëntengroep observeren we een significante vermindering in het aantal fouten van de taalopdracht tijdens de theta-stimulatie. Daarnaast vinden we een significant langdurig pre-post theta-effect in de patiëntengroep. Deze resultaten tonen aan dat theta-tACS de taalplanning en het werkgeheugen bij patiënten met klassieke galactosemie kan beïnvloeden. Dit is veelbelovend in de zoektocht naar een behandeling om de taalprestaties bij patiënten met klassieke galactosemie te verbeteren. Verder onderzoek is noodzakelijk om de klinische relevantie en praktische bruikbaarheid te onderzoeken.

Tot slot worden in **hoofdstuk 9** de resultaten van dit proefschrift besproken en worden toekomstige onderzoeksperspectieven geschetst.