

CAMBIOS EN LA ACTIVIDAD DE LA GALACTOSA-1-FOSFATO URIDIL TRANSFERASA DURANTE EL DESARROLLO POST-NATAL(*)

FABIO A. RODRIGUEZ C., M.D., M.SC. (1)

FERNANDO PALOMINO Q., M.D. (2)

NANCY LOZANO DE MIRANDA (1)

MARTA CAMAÑO DE ZAPATA (1)

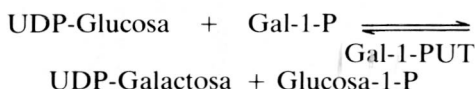
RESUMEN

Se presentan los valores de la actividad eritrocitaria de la Galactosa-1-fosfato uridil transferasa (GAL-1-PUT) (E.C. 2.7.7.12) en individuos humanos de diferentes edades desde el recién nacido hasta el adulto. Los resultados permiten proponer los valores de referencia para la actividad de la enzima en población colombiana.

La variación en los valores de la actividad enzimática observada según la edad permite apoyar la hipótesis de una inducibilidad de la enzima en el humano, de forma similar a como ocurre en otras especies y con otras enzimas de la vía metabólica de la galactosa.

INTRODUCCION

La galactosa-1-fosfato uridil transferasa (GAL-1-PUT) (E.C.2.7.7.12) cataliza la transferencia de un grupo de uridina difosfato (UDP) de la UDP-Glucosa a la Galactosa-1-fosfato para formar UDP-Galactosa y Glucosa-1-P:



Esta reacción, junto con las reacciones catalizadas por la galactokinasa y por la UDP-Galactosa-4-epimerasa hace parte de la vía que permite el metabolismo de la galactosa (27,34) (Gráfica No. 1). La GAL-1-PUT se encuentra en todas las células del organismo, pudiéndose medir su actividad con relativa facilidad en eritrocitos (24), hígado (52) y fibroblastos (40).

La enzima aislada del hígado de rata tiene un K_m para la UDP - Glucosa de 0.1 a 0.2 mM, valor que se encuentra dentro del rango fisiológico de la concentración de UDP-Glucosa hepática (31).

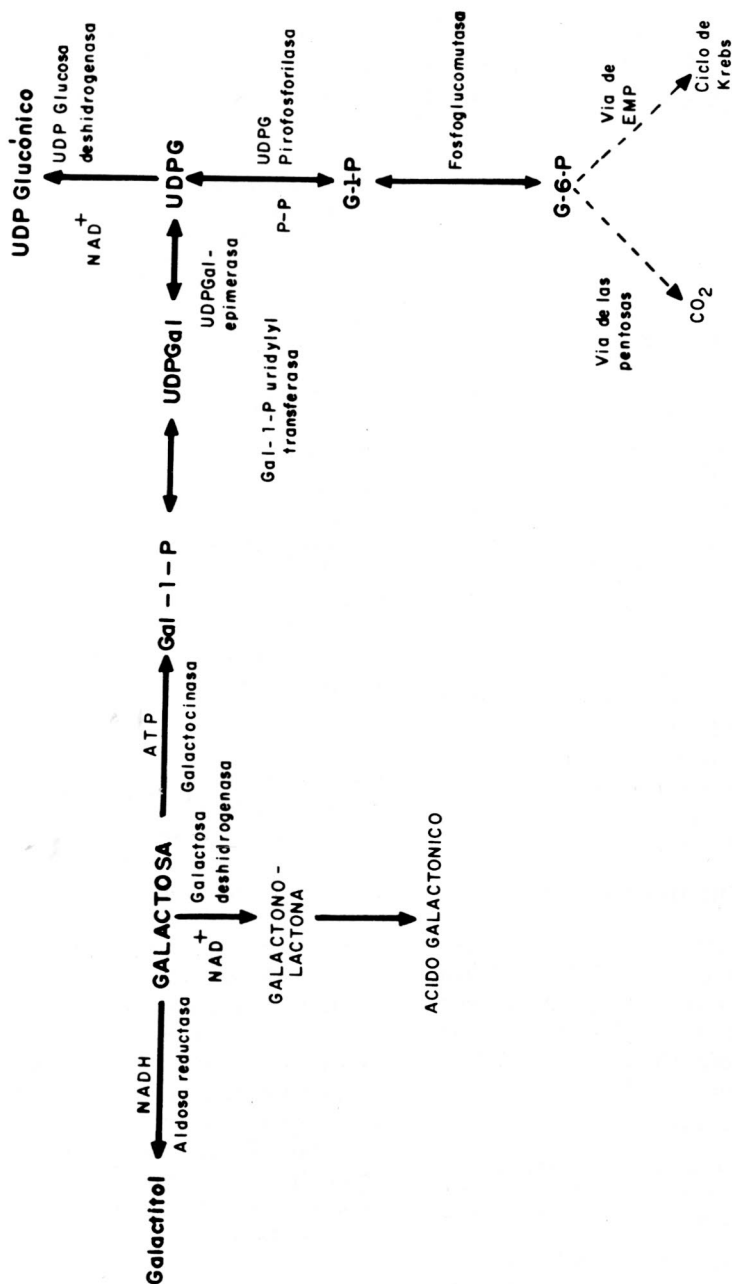
Como es de esperarse, la tasa de la reacción puede ser regulada por la concentración del sustrato, pero además limitada por inhibición por el sustrato a niveles elevados de UDP-Glucosa. Adicional a lo anterior, la glucosa-1-fosfato se comporta como un potente inhibidor de la enzima, así como los nucleótidos de uridina (di y tri-fosfatos) los cuales son inhibidores competitivos del sustrato UDP-Glucosa (53).

Los estudios más extensos se han realizado con la enzima purificada a partir de glóbulos rojos humanos (7, 17, 58), don-

(*): Esta investigación se realizó gracias a la apropiación presupuestal PI 40/79 del C.I.N.D.E.C. de la Universidad Nacional de Colombia.

(1): Profesor Asistente, Sección de Bioquímica.

(2): Instructor Asistente, Sección de Fisiología. Departamento de Ciencias Fisiológicas - Facultad de Medicina Universidad Nacional de Colombia - Bogotá D.E.

GRAFICA N.º 1

Esquema del metabolismo de la galactosa en células humanas
(Modificado de Hill H. y Pucktt P.: Science 179:1136,1973.)

Abreviaturas: Gal-1-P: galactosa-1-fosfato, UDP Gal: uridindifosfato de galactosa.

UDPG: Uridindifosfato de glucosa.

G-1-P: glucosa-1-fosfato.

G-6-P: glucosa 6 fosfato.

Via de EMP: Via de glicólisis de Embden-Meyerhof-parnas.

de Tedesco encontró para esta enzima un peso molecular de 90.000 daltons, con una estructura de sub-unidades, cada una con un peso monomérico de 30.000 (58), y Beutler y cols. (7) encontraron un pH óptimo de 8.5, un Km variable con el pH y con la concentración de sustrato, de tal forma que a pH 8.7 y una concentración 0.6 mM de UDP - Glucosa el Km para la Gal-1-P es de 0.39 mM, y a 1.29 mM de Gal-1-P el Km para el UDP-Glucosa es 0.16 mM, encontrándose que al incrementar la concentración de cualquiera de los sustratos se incrementa el Km para el otro sustrato. Se ha postulado la existencia de un mecanismo ping-pong en la actividad de esta enzima (63).

En 1956 Kalckar y cols. (28, 29) e Isselbacher y cols. (25) y Anderson y cols. en 1957 (3), demostraron la ausencia de actividad de GAL-1-PUT en los pacientes afectados de galactosemia, enfermedad caracterizada como entidad clínica desde los estudios de Mason y Turner en 1935 (36). Estudios posteriores han confirmado la ausencia de la actividad enzimática en glóbulos rojos (24), glóbulos blancos (24), fibroblastos cutáneos (33), mucosa intestinal (49) e hígado (52) en los pacientes galactosémicos. Por pruebas de doble inmunodifusión se ha demostrado en los eritrocitos de galactosémicos homocigotos la presencia de una proteína que da reacción cruzada con el anticuerpo preparado contra la transferasa normal (58), y que también eluye en las mismas fracciones que la enzima normal en cromatografía de filtración en gel (Sephadex G-200), indicando por lo tanto un peso molecular cercano a 90.000 daltons (59). Estos datos sugieren la presencia de una "transferasa" enzimáticamente inactiva en los glóbulos rojos de los galactosémicos.

Se han descrito formas moderadas de galactosemia en sujetos de raza negra (35), lo cual parece explicarse por la presencia de actividad residual de la transferasa en

tejidos viscerales, particularmente en el hígado (52), la cual puede llegar hasta un 10% de lo normal (35).

Además de la variante de los negros se han encontrado otras. En 1965, Beutler y cols. (6) describieron la variante Duarte que resulta en una disminución de un 50% de la actividad enzimática de la transferasa pero sin trastorno clínico. Schapira y Kaplan (51) describieron la variante Rennes, con una actividad de aproximadamente el 7% de lo normal. En 1971 se describió la variante Indiana de la galactosemia (12), con una actividad del 35% de lo normal y una enzima muy inestable. Ng, Bergren y Donnell (47) han descrito la variante Los Angeles, en la que los homocigotos y los heterocigotos tienen una actividad mayor de lo normal. Chacko y cols. en 1977 (14) describieron la variante Chicago de la galactosemia en la cual la actividad enzimática es el 25% de lo normal.

Varios trabajos indican que la actividad de las enzimas de la vía de la galactosa está influida por el estado general del metabolismo de los carbohidratos. Por ejemplo, se ha documentado un cambio en la actividad de la GAL-1-PUT, la cual aumenta en el hígado de rata lactante perfundido con una solución con alto contenido de galactosa (50), y se observa un fenómeno similar en la mucosa intestinal de ratas alimentadas con una dieta rica en galactosa (56). Si bien la mayoría de los estudios se ha realizado con la enzima eritrocitaria humana (7, 17, 24, 30, 61), no se han documentado cambios inducidos por factores dietéticos ni hormonales que influyan sobre la misma en el hombre. Se ha informado con anterioridad el nivel de actividad de la enzima en adultos normales (24, 38), recién nacidos normales (46) e individuos afectados de galactosemia (44), pero en contraste con la galactokinasa (37, 45) no se han descrito los niveles de la enzima hepática ni eritrocitaria durante el desarrollo humano

post-natal, aunque su actividad se ha determinado en órganos fetales (54, 55).

Este estudio tuvo como objetivo determinar los valores normales de actividad eritrocitaria de GAL-1-PUT en una muestra de individuos colombianos de diferentes edades, desde el recién nacido hasta el adulto, con el fin de describir las posibles variaciones durante el crecimiento y desarrollo y hacer un primer intento para establecer valores de referencia en nuestro medio, que puedan ser usados en futuros estudios sobre la enzima incluyendo las diversas formas de galactosemia y trastornos afines.

MATERIALES Y METODOS

Se realizó un trabajo de investigación experimental en 66 sujetos evaluados como normales y distribuidos en cinco grupos de edad, cuatro de ellos de definición pediátrica y uno de adultos. En cada sujeto se realizó la determinación enzimática como se detalla a continuación:

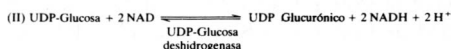
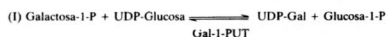
a) Especímenes de sangre:

Se obtuvo una muestra de 2 ml de sangre del cordón umbilical de 10 recién nacidos a término de madres atendidas en el Instituto Materno Infantil de Bogotá, Colombia, y juzgados normales por la evaluación pediátrica. Así mismo se obtuvieron muestras de 5 ml de sangre venosa de 10 niños de 1 a 11 meses de edad, de 13 niños de 1 a 4 años de edad y de 10 niños de 5 a 12 años, que asistían a control de niño sano en el Servicio Médico de CAFAM, Bogotá, Colombia, así como de 23 adultos voluntarios sanos. Todas las muestras fueron tomadas usando heparina como anticoagulante y mantenidas a 4°C hasta su análisis.

b) Determinación de la actividad de la enzima:

La actividad de la enzima se determinó en hemolizados obtenidos por conge-

lación-descongelación en agua destilada de los eritrocitos. La técnica utilizada fue la de Anderson y cols. (2), modificada por Beutler y Baluda (8), la cual se basa en el consumo de UDP-Glucosa según las reacciones:



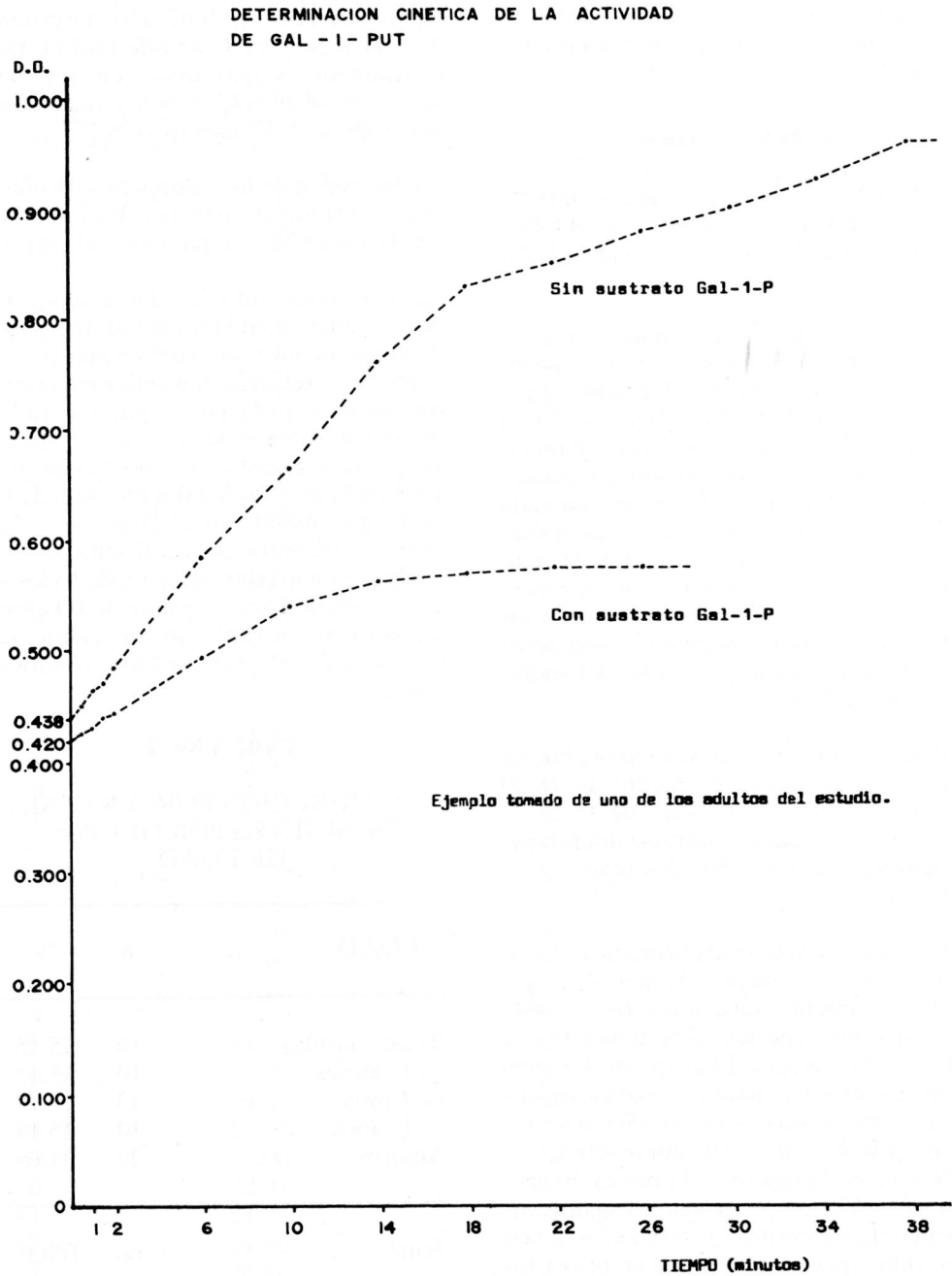
La formación de NADH se midió espectrofotométricamente en el ultravioleta – 340 nm– (65) usando un espectrofotómetro Beckman DB-GT de doble haz con cubetas semi-micro. La cinética de la formación de NADH es directamente proporcional a la cantidad remanente de UDP – Glucosa luego de incubar ésta con el hemolizado. Entre mayor es la actividad de GAL-1-PUT en el hemolizado, menor es la cantidad remanente de UDP-Glucosa. Los resultados se convirtieron a actividad específica en Unidades por gramo de Hemoglobina (U/g Hb). Una unidad de GAL-1-PUT causa la utilización de 1.0 mol de UDP-Glucosa por hora a 37°C y pH 8.7. (Gráfica No. 2). La concentración de hemoglobina en el hemolizado se determinó con el método clásico de la cianmetahemoglobina (reacción de Drabkin) (43).

Debido a que los eritrocitos de los recién nacidos son deficientes en NADasa (4) se adicionó 0.05 U. de NAD-nucleosida de *Neurospora crassa* a cada hemolizado con el fin de evitar interferencias por el NAD endógeno.

c) Manejo Estadístico

Los métodos estadísticos utilizados para hallar las significancias estadísticas entre los diferentes grupos etáreos fue la "t" de Student para pequeñas muestras, y también la distribución normal para todo el grupo. Se utilizó un Alfa de 0.025 y una p

GRAFICA N° 2.



de 0.05 como significativa. Se realizó también regresión lineal y exponencial para las correlaciones entre la edad y los datos obtenidos para la actividad de la enzima, aplicadas a la totalidad de los individuos y a cada grupo de edad por separado.

RESULTADOS

Los grupos etáreos en los que se agruparon los individuos de quienes se obtuvieron las muestras se presentan en la Tabla No. 1.

Los valores de la actividad de la GAL-1-PUT para cada individuo en su respectivo grupo aparecen en la Tabla No. 2 y la Gráfica No. 3. En la Tabla No. 3 y la Gráfica No. 4 se presentan los intervalos, promedios y desviaciones standard para la actividad de la enzima en cada grupo, donde resulta claro que existe una variación de la actividad de la enzima, con un valor mínimo en los recién nacidos, luego un valor máximo en los lactantes menores, seguido de una declinación hasta alcanzar el valor del adulto en los escolares.

Para los individuos de sexo masculino se encontró un valor promedio de 18.20 ± 5.02 y para las mujeres de 18.28 ± 5.69 U/g Hb, sin encontrarse diferencias significativas entre los dos sexos ($p = N.S.$).

Los datos de actividad enzimática encontrados en el grupo de 1-11 meses son significativamente superiores ($p < 0.001$) comparados con los correspondientes a los recién nacidos. El grupo de 1-4 años mostró una actividad enzimática significativamente superior ($p < 0.005$) a los recién nacidos, pero sin diferencia ($p = N.S.$) con el grupo de 1-11 meses. El grupo de 5-12 años posee valores significativamente superiores ($p < 0.02$) a los recién nacidos, pero inferiores al compararlos con los del grupo de 1-11 meses ($p <$

0.02). Finalmente, los datos de actividad enzimática del grupo de adultos son significativamente superiores ($p < 0.02$) con relación a los neonatos y significativamente inferiores ($p < 0.02$) a los del grupo de 1-11 meses, pero sin diferencia estadísticamente significativa con los del grupo de 1-4 años ($p = N.S.$), ni con los del grupo de 5-12 años ($p = N.S.$).

La dispersión de los valores de actividad enzimática mostró una distribución normal (Gráfica No. 5), para todo el grupo.

La correlación entre la edad y la actividad enzimática en la totalidad de los individuos mostró un coeficiente ($r = 0.40$) de correlación. Sin embargo, la correlación en cada grupo por separado mostró un coeficiente ($r = 0.70$) para el grupo de 1-11 meses, con un máximo de actividad entre los 5 y 6 meses de edad; de forma similar, en el grupo de 5-12 años se encontró un coeficiente ($r = 0.67$) con un máximo de actividad a los 8 años de edad. Para los grupos de 1-4 años y adultos se encontró un coeficiente de 0.26 y 0.27 respectivamente (Gráfica No. 6).

TABLA No. 1

DISTRIBUCION PORCENTUAL DE SUJETOS POR GRUPOS DE EDAD

EDAD	n	%
Recién nacidos	10	15.15
1 a 11 meses	10	15.15
1 a 4 años	13	19.70
5 a 12 años	10	15.15
Adultos	23	34.85
Total	66	100.0

TABLA No. 2
VALORES DE ACTIVIDAD
DE GAL-1-PUT PARA CADA
SUJETO DEL ESTUDIO

#	Actividad U/g Hb	#	Actividad U/g Hb
GRUPO DE NEONATOS		GRUPO DE 5 A 12 AÑOS	
1	9.43	1	7.16
2	9.50	2	10.20
3	10.63	3	11.38
4	11.86	4	13.60
5	12.10	5	16.42
6	12.90	6	17.46
7	12.93	7	18.07
8	13.10	8	18.25
9	14.25	9	18.60
10	15.73	10	19.36
GRUPO DE 1 A 11 MESES		GRUPO DE ADULTOS	
1	10.76	1	11.70
2	12.80	2	12.20
3	14.63	3	13.55
4	17.74	4	14.10
5	18.90	5	14.20
6	21.72	6	14.52
7	24.10	7	14.70
8	24.90	8	15.40
9	26.41	9	15.43
10	27.76	10	15.66
GRUPO DE 1 A 4 AÑOS		11	16.60
1	7.98	12	16.75
2	10.00	13	16.85
3	11.10	14	17.12
4	12.40	15	17.15
5	14.36	16	17.17
6	18.20	17	17.20
7	19.45	18	17.25
8	20.23	19	17.30
9	21.00	20	17.45
10	22.93	21	17.96
11	24.75	22	18.05
12	24.80	23	18.10
13	26.10		

GRAFICA N° 3.

DISTRIBUCION DE FRECUENCIAS DE ACTIVIDADES DE LA GAL-1-PUT
EN LOS INDIVIDUOS ESTUDIADOS.

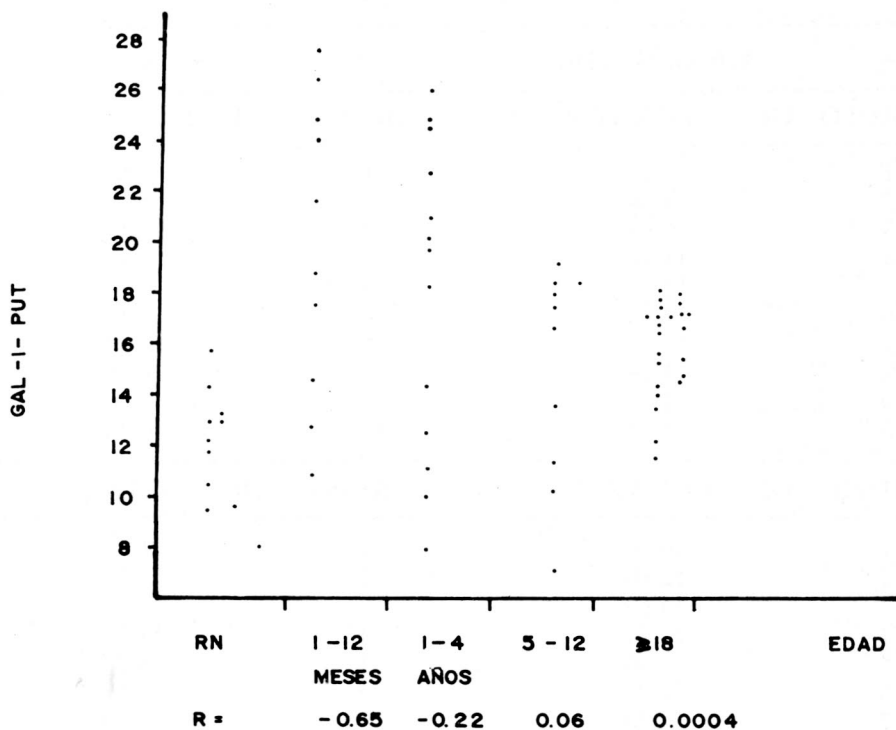


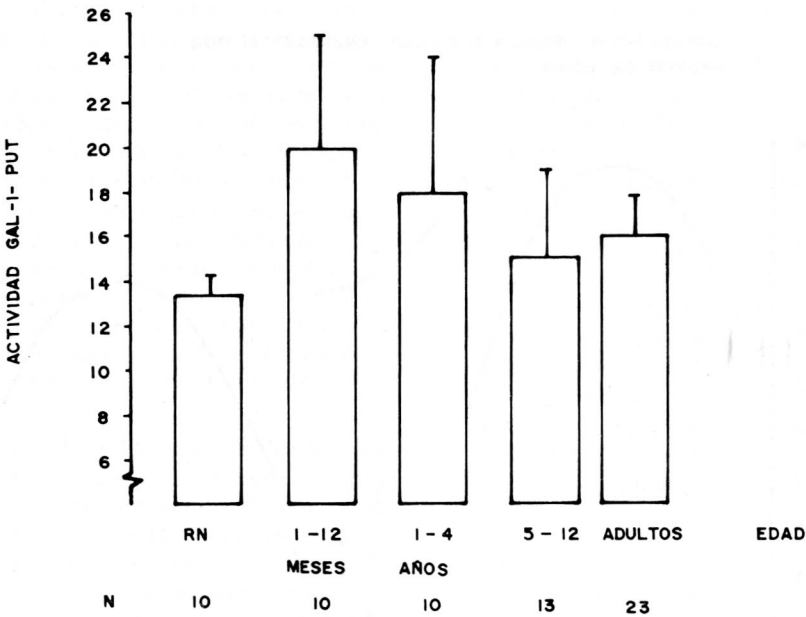
TABLA No. 3

VALORES PARA LA ACTIVIDAD ERITROCITARIA
DE LA GALACTOSA-1-FOSFATO URIDIL
TRANSFERASA POR GRUPOS DE EDAD.

Grupo edad	n	Actividad GAL-1-PUT en U/g Hb				
		Min.	Valores Máx.	Promedio x	Desv. Standard S.D.	
Neonatos	10	9.43	—	15.73	12.24	1.90
1-11 meses	10	10.76	—	27.79	19.97	5.63
1-4 años	13	7.98	—	26.10	17.95	5.91
5-12 años	10	7.16	—	19.36	15.04	3.99
Adultos	23	11.70	—	18.15	15.93	1.81

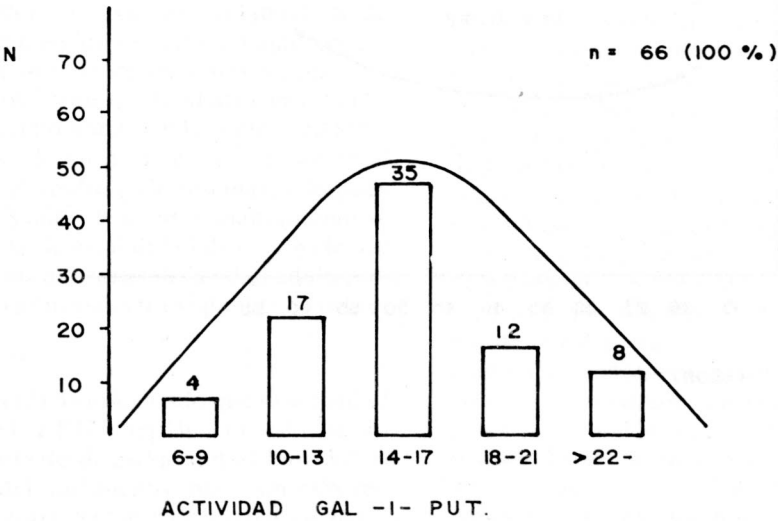
GRAFICA N° 4.

PROMEDIOS DE ACTIVIDAD SEGUN GRUPOS DE EDAD.



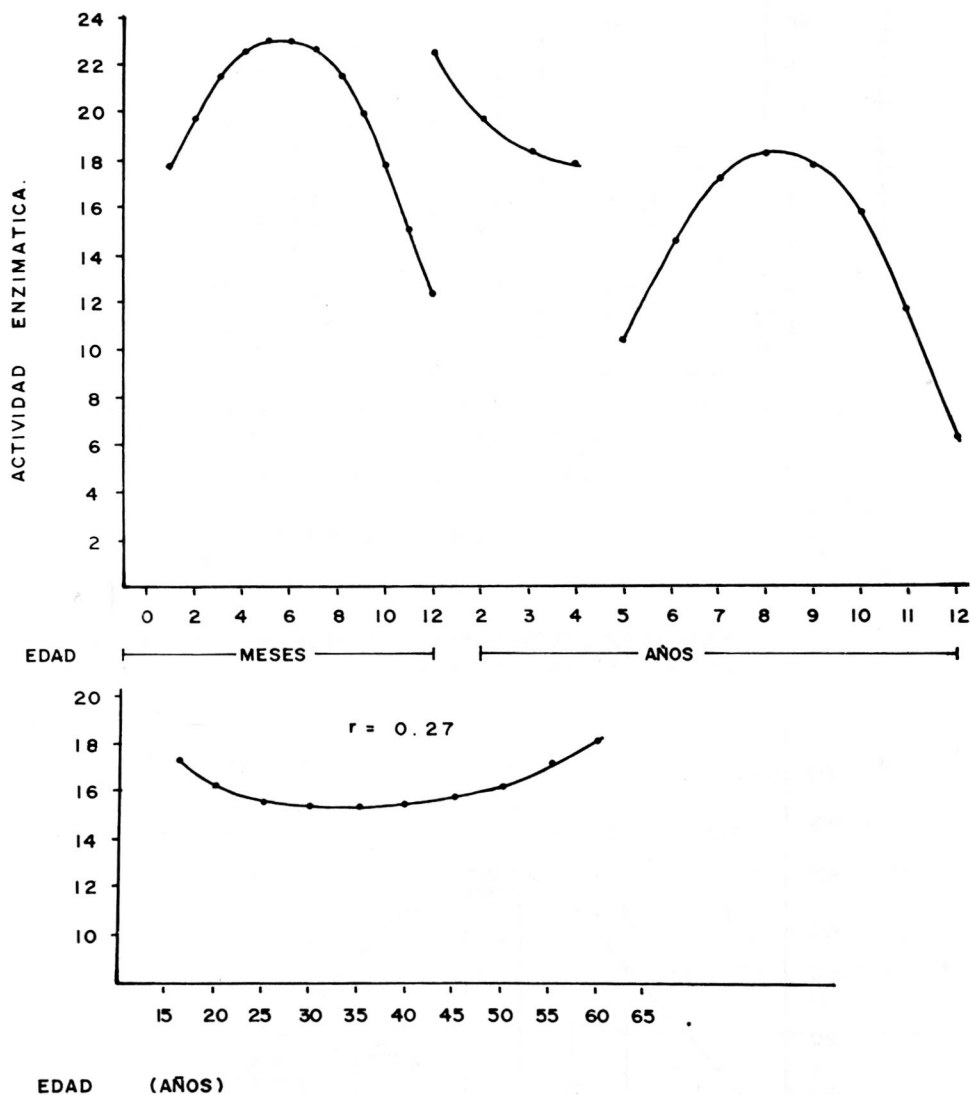
GRAFICA N° 5.

DISTRIBUCION PORCENTUAL DE FRECUENCIAS DE LA ACTIVIDAD GAL-1-PUT.



GRAFICA N° 6.

CORRELACION EDAD Y ACTIVIDAD ENZIMATICA POR GRUPOS DE EDAD.



DISCUSION

Los datos presentados en este trabajo en relación al grupo de adultos no revelan diferencias estadísticamente significativas ($p = \text{N.S.}$) con respecto a los datos de Brethauer y cols. (9), von Fernekorn y cols. (21), ni Mellman y cols. (39), pero son inferiores ($p < 0.05$) a los informados por Dahlqvist (18) y Chacko y cols. (14). Sin embargo, estos últimos autores usaron una variación en la técnica consistente en la adición de ditiotreitól. La discrepancia entre los datos obtenidos con las dos técnicas puede deberse a que el ditiotreitól inactiva a la Galactosa-4-epimerasa presente en el hemolizado (57).

En cuanto al establecimiento de un valor de referencia en nuestro medio, según nuestros datos para adultos éste sería de 15.92 ± 3.63 U/g Hb para un 95% de confiabilidad, muy similar a los aceptados internacionalmente con la técnica utilizada por nosotros (9, 21, 39). En la Tabla No. 4 se sugieren los valores de referencia para los diversos grupos de edad utilizados.

La variación en la actividad eritrocitaria de GAL-1-PUT en humanos presentada en nuestros resultados para los grupos de edad utilizados, con el nivel más bajo de actividad en los neonatos, seguido de un incremento en los lactantes alcanzando hacia los 5-6 meses de edad la mayor actividad comparada con las demás edades, seguido de un declive hasta alcanzar el valor del adulto en los escolares después de los 8 años de edad, y manteniéndose una notable estabilidad de los niveles de la enzima a lo largo de la edad adulta, no ha sido informada previamente en la literatura.

Bertoli (5) ha informado que la actividad de GAL-1-PUT hepática en ratas se incrementa desde un valor muy bajo 3 días antes del nacimiento, hasta un máximo en el animal lactante de 10 días de edad,

para luego disminuir hasta los valores del animal adulto entre los 35 y 45 días de edad. Un comportamiento similar de la enzima se ha observado en el intestino delgado de la rata (32, 56). Es de sumo interés que la perfusión con galactosa in vitro de hígado de rata lactante conlleva un incremento en la actividad de la enzima, pero este efecto no se observa en el hígado del animal adulto (50).

TABLA No. 4

VALORES DE REFERENCIA
DE ACTIVIDAD ERITROCITARIA
DE GALACTOSA-1-FOSFATO
URIDIL TRANSFERASA
SUGERIDOS PARA COLOMBIA
EN DIFERENTES GRUPOS
DE EDAD

EDAD	Actividad U/g Hb
Neonatos	8.45 a 16.04
1-11 meses	8.70 a 31.24
1-4 años	6.12 a 29.77
5-12 años	7.06 a 23.02
Adultos	12.91 a 19.55

Este conjunto de hechos sugiere que en los mamíferos la GAL-1-PUT es una enzima inducible, al menos al comienzo de la vida extrauterina, por la administración de una dieta rica en galactosa. Si se tiene en cuenta la documentada estabilidad de los niveles de la enzima en los adultos de varias especies es llamativa la posibilidad de considerar la presencia de un gen regulador influido por los niveles de galactosa. En favor de esta hipótesis cabe citar que otra enzima del metabolismo de la galactosa, la galactokinasa, incrementa también su actividad en el hígado de la rata desde el nacimiento hasta alcanzar un máximo a los 5 días de edad, seguido luego de una disminución progresiva hasta el animal adulto (15, 60). Además, fibroblastos humanos norma-

les en cultivo muestran un incremento en los niveles de galactokinasa cuando crecen en presencia de galactosa (64).

Se han documentado hechos similares para la tercera enzima de la vía metabólica de la galactosa, la UDP-Galactosa-4-epimerasa. Por ejemplo, la actividad de esta enzima en el hígado de rata es mayor en el animal recién nacido que en el adulto y se mantiene elevada durante el periodo de ingestión de leche (16). En estos mismos animales la actividad intestinal de la enzima puede ser aumentada por la administración de dietas con alto contenido de galactosa (56). La UDP-Galactosa-4-epimerasa en los eritrocitos humanos tiene una mayor actividad en recién nacidos que en adultos (4). Sin embargo, esta enzima ha sido caracterizada en fibroblastos humanos en cultivo donde no se encontró relacionada con la concentración de galactosa del medio de incubación (13).

En concordancia con lo anterior, Hawton y Ford (22), Mulligan y Schwartz (42), y Vink y Kroes (59) han demostrado una mayor elevación de la glucosa sanguínea y una eliminación de la galactosa más rápida en niños que en adultos luego de la administración de galactosa. Si se tienen en cuenta los datos aquí presentados, los de Mulligan y Schwartz (42) y de Hjelm y Sjölin (23) referentes a la menor eliminación de la galactosa en los neonatos que en los niños mayores, concuerdan con los bajos niveles de GAL-1-PUT encontrados por nosotros en el grupo de neonatos, y no contradicen los estudios citados.

Por otro lado, normalmente la capacidad de *E. coli* para metabolizar la galactosa es inducible, esto es, la incubación en soluciones que contienen galactosa es seguida por la aparición de niveles altos de las enzimas de la vía de la galactosa: galactokinasa, GAL-1-PUT y UDP-Galactosa-4-epimerasa (11, 26, 62). Se ha hecho el mapeo genético de los genes de la

galactosa en *E. coli*. La secuencia de los genes en el cromosoma bacteriano es: kinasa, transferasa, epimerasa y operador (1, 10, 41). Los genes K-T-E-O funcionan como un operón con un gen regulador que no está en la región Gal, sino en otra parte del cromosoma bacteriano. La función del regulador parece estar influenciada por los niveles de AMPc y su proteína receptora (19). En el protozooario *Tetrahymena* (48) se ha mostrado un incremento en la actividad de galactokinasa en presencia de AMPc.

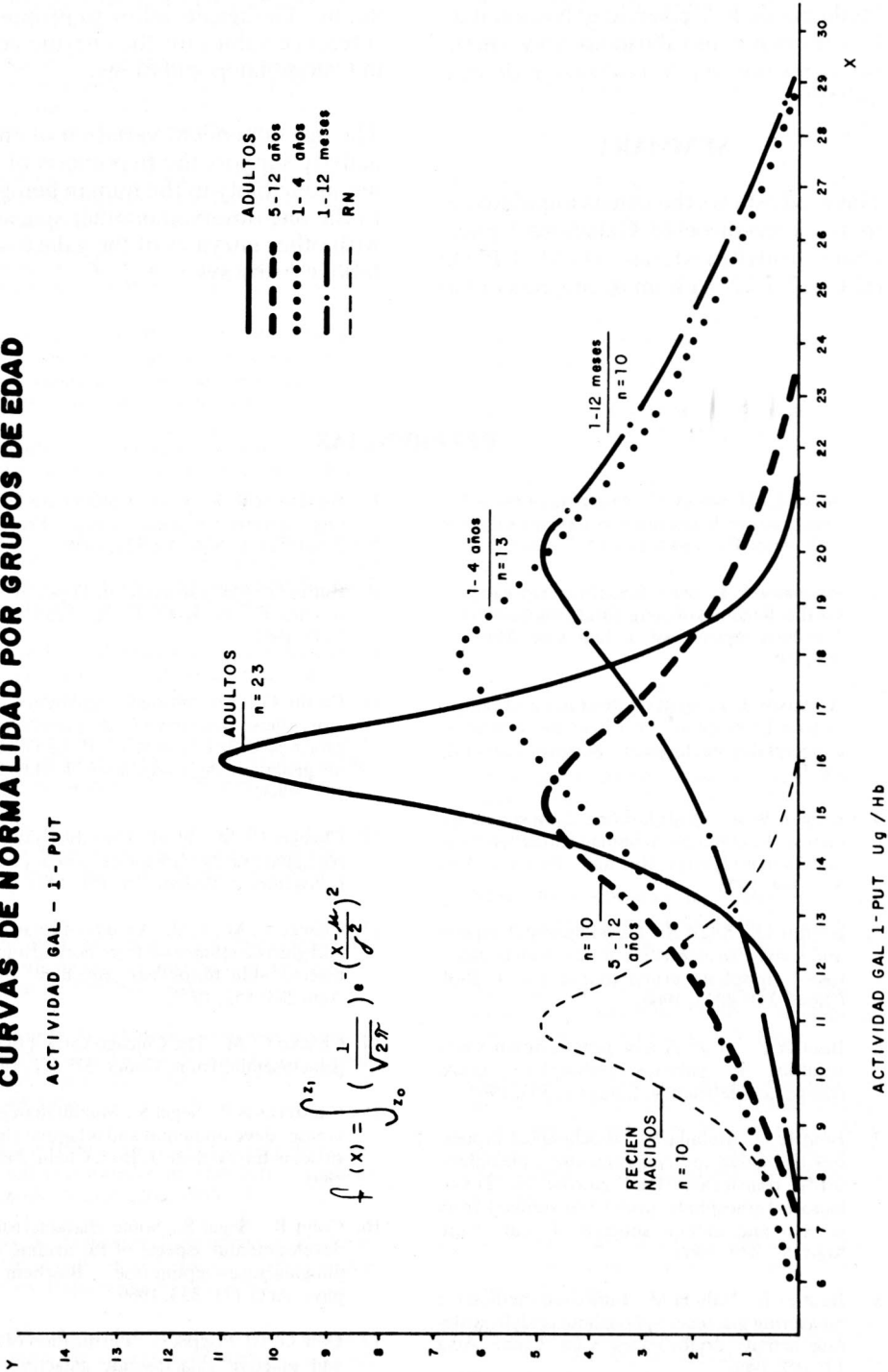
Por consiguiente, parece estar bien establecido el hecho de la inducibilidad de las enzimas de la vía de la galactosa en varias especies desde las bacterias hasta los mamíferos, incluido al parecer el humano. Los datos que aquí se presentan por primera vez en la literatura apoyan la hipótesis previamente planteada de la inducibilidad en el individuo joven de la GAL-1-PUT, pudiéndose suponer la posible presencia de un mecanismo de regulación genética. Evidentemente se requieren estudios posteriores para confirmar esta hipótesis.

Adicionalmente, estos datos permiten sugerir los valores de referencia para los niveles de la enzima en individuos de diferentes edades en nuestro medio, para ser utilizados en la realización de futuros estudios sobre el tema. (Gráfica No. 7).

AGRADECIMIENTOS

A los Doctores Edgar Rey, Héctor Ulloque, Roberto Carrascal y Santiago Curra del Servicio de Neonatología del Instituto Materno Infantil de Bogotá, por permitirnos la recolección de muestras y por la evaluación pediátrica de los recién nacidos. Al Doctor Germán Franco del Departamento de Pediatría de CAFAM por el suministro de muestras de niños sanos. Al Profesor Dr Emilio Yunis T. de la Sección de Genética y al Profesor Dr. Ernesto Barbosa M. de la

GRAFICA N° 7
CURVAS DE NORMALIDAD POR GRUPOS DE EDAD
ACTIVIDAD GAL - I - PUT



Sección de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia por su valioso apoyo y sus sugerencias durante la realización de este trabajo.

SUMMARY

This study shows the values found for activity of erythrocyte Galactose-1-phosphate uridyltransferase (GAL-1-PUT) (E.C.2.7.7.12) in human subjects of va-

rious age groups, from newborns up to adults. The results allow to propose the reference values for the enzyme activity in Colombian populations.

The age dependent variation of enzyme activity support the hypothesis of enzyme inducibility in the human being alike to the one observed in other species and with other enzymes of the galactose metabolic pathways.

REFERENCIAS

- Adler J., Haiser A.D.: Mapping of the galactose genes of *Escherichia coli* by transduction with phage P1. *Virology* 19:117, 1963.
- Anderson E.P., et al.: Specific enzymatic assay for the diagnosis of congenital galactosemia. I. The consumption test. *J. Lab. Clin. Med.* 50: 469, 1957.
- Anderson E.P., et al: Defect in uptake of galactose-1-phosphate into liver nucleotides in congenital galactosemia. *Science* 125: 113, 1957.
- Bergen W.R., et al: Uridine diphosphate galactose-4-epimerase in human and other mammalian hemolysates. *Biochem. Biophys. Acta* 315: 464, 1973.
- Bertoli D., Segal S.: Developmental aspects and some characteristics of mammalian galactose-1-phosphate uridyl transferase. *J. Biol. Chem.* 241: 4023, 1966.
- Beutler E., et al: A new genetic abnormality resulting in galactose-1-phosphate uridyl transferase deficiency. *Lancet* 1: 353, 1965.
- Beutler E., Baluda M.: Biochemical properties of human red cell galactose-1-phosphate uridyl transferase (UDP-glucose: α -D-Galactose-1-phosphate uridyl transferase) from normal and mutant subjects. *J. Lab. Clin. Med.* 67: 947, 1966.
- Beutler E., Baluda M.: Improved method for measuring galactose-1-phosphate uridyltransferase activity erythrocytes. *Clin. Chim. Acta* 13: 369, 1966.
- Brethauer R. K., et al: A procedure for detecting carriers of galactosemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 45: 328, 1959.
- Buttin G.: Sur la structure de l'operon galactose chez *E. coli* K-12. *C. R. Acad. Sci.* 255: 1233, 1962.
- Buttin G.: Mécanismes régulateurs dans la biosynthese des enzymes du métabolisme du galactose chez *E. coli* K-12. II. Le déterminisme génétique de la régulation. *J. Mol. Biol.* 7: 183, 1963.
- Chacko C. M., et al: Unstable galactose-1-phosphate uridyltransferase: a new variant galactosemia. *J. Pediatr.* 78: 454, 1971.
- Chacko C. M., et al.: A study of galactokinase and glucose epimerase from normal and galactosemic skin fibroblasts. *Biochem. Biophys. Acta* 284: 552, 1972.
- Chacko C. M.: The Chicago variant of clinical galactosemia. *Hum. Genet.* 37: 261, 1977.
- Cuatrecasas P., Segal S.: Mammalian galactokinase; developmental and adaptive characteristics in the rat liver. *J. Biol. Chem.* 240: 2382, 1965.
- Cohn R., Segal S.: Some characteristics and developmental aspects of rat uridine diphosphogalactose-4-epimerase. *Biochem. Biophys. Acta* 171: 333, 1969.
- Dale G. L., Popjak G.: Purification of normal and inactive galactosemic galactose-1-phos-

- phate uridyl transferase from human red cells. *J. Biol. Chem.* 251: 1057, 1976.
18. Dalqvist A., et al: Blood galactose-1-phosphate uridyl transferase activity in displastcs patients with and without chromosomal aberrations. *Hum. Heredt.* 19: 628, 1969.
19. DiLauro R., et al.: Unusual location and function of the operator in the *Escherichia coli* galactose operon. *Nature* 279: 494, 1979.
20. Donnell G. N., et al.: Galactose-1-phosphate in galactosemia. *Pediatrics* 31: 802, 1963.
21. vonFernekm A., Fichring C.: Zur Häufigkeit des Uridyl-transferase-Mangels bei Patienten mit Galactoseverwertungsstörungen. *Dt. Gensund. Wesen* 31: 2455, 1976.
22. Haworth J. C., Ford J. D.: Variation of the oral galactose tolerance test with age. *J. Pediatr.* 63: 276, 1963.
23. Hjelm M., Sjölin S.: Changes in the elimination rate from blood of intravenously injected galactose during the neonatal period. *Scand. J. Clin. Invest.* 18 (Suppl): 92, 1966.
24. Inouye T., et al: Galactose-1-phosphate uridyl transferase in red and white blood cells. *Clin. Chim. Acta* 19: 169, 1968.
25. Isselbacher K. S., et al.: Congenital galactosemia: a single enzymatic block in galactose metabolism. *Science* 123: 635, 1956.
26. Jordan E., et al: Control of inducibility of enzymes of the galactose sequence in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 48: 32, 1962.
27. Kalckar H. M., et al.: Uridyltransferases and the formation of uridine-diphosphate galactose. *Nature* 172: 1038, 1953.
28. Kalckar H. M., et al: Galactosemia: a congenital defect in a nucleotide transferase: a preliminary report. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 42: 49, 1956.
29. Kalckar H. M., et al: Galactosemia: a congenital defect in a nucleotide transferase. *Biochem. Biophys. Acta* 20: 262, 1956.
30. Kelly S.: Galactose-1-phosphate uridyltransferase activity in red cells of various animal species. *Experientia* 37: 550, 1981.
31. Keppler D., et al: Changes in uridine nucleotides during liver perfusion with D-galactosamine. *FEBS Letters* 4: 278, 1969.
32. Kou C., et al: Developmental aspects of galactose-1-phosphate uridyltransferase in rat intestine. *Biol. Neonat.* 27: 153, 1975.
33. Kroot R., Weinberg A. N.: Studies on cell lines developed from the tissues of patients with galactosemia. *J. Exp. Med.* 113: 1155, 1961.
34. Leloir L. F.: The enzymatic transformation of uridine diphosphate-glucose into a galactose derivate. *Arch. Biochem. Biophys.* 33: 186, 1951.
35. Lestrade H., Troubles métaboliques du galactose et du fructose. En: *Enzymopathies*, ed. por Gajdos A., Lestrade H., Mason et Cie., Paris, 1971. Fasc. III, pp. 142.
36. Mason H. H., Turner M. E.: Chronic galactosemia. *Am. J. Dis. Child.* 50: 359, 1935.
37. Mathai C., Beutler E.: Biochemical characteristics of galactokinase from adult and fetal human red cells. *Enzymologia* 33: 14, 1967.
38. Mayes J. S., Hanson R. G.: Galactose-1-phosphate uridyl transferase, en: *Methods in Enzymology*, ed. Por Wood W.A., Academic Press, New York, 1966, Vol. 9, pp. 708.
39. Mellman W. J., et al: Leukocyte enzymes in Down's syndrome. *Lancet* 2: 674, 1964.
40. Mellman W. J., Tedesco T. A.: Galactose-1-phosphate uridyltransferase and galactokinase activity in cultivated human diploid fibroblasts and peripheral blood leucocytes. *J. Clin. Invest.* 48: 2391, 1969.
41. Morse M. L.: Preliminary genetic map of seventeen galactose mutations in *E. coli* K-12. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 48: 1314, 1962.
42. Mulligan P. B., Schwartz R.: Hepatic carbohydrate metabolism in the genesis of neonatal hypoglycemia. *Pediatrics* 30: 125, 1962.
43. Nelson D. A.: Hematology and Coagulation, en: *Todd-Sanford-Davidson's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, ed. por: Henry J.B., 16a. edición, W.B. Saunders & Co., Philadelphia, 1979, Cap. 27, pp. 864.
44. Ng W. G., et al: Galactose-1-phosphate uridyl transferase activity in galactosemia. *Nature* 203: 845, 1964.
45. Ng W. G., et al: Galactokinase activity in human erythrocytes of individuals at different ages. *J. Lab. Clin. Med.* 66: 115, 1965.

46. Ng W. G., et al: Galactose-1-phosphate uridylyltransferase activity in hemolysates of newborn infants. *Pediatrics* 39: 293, 1967.
47. Ng W. G., et al: A new variant of galactose-1-phosphate uridylyltransferase in man: the Los Angeles variant. *Ann. Hum. Genet.* 37: 1, 1973.
48. Roberts C. T. Jr., Morse D. E.: Genetic regulation of galactokinase in *Tetrahymena* by cyclic AMP, glucose and epinephrine. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 75: 1810, 1978.
49. Rogers S., et al: Characteristics of galactose-1-phosphate uridylyl transferase in intestinal mucosa of normal and galactosemic humans. *Metabolism* 19: 701, 1970.
50. Rogers S., Segal S.: Changing activities of galactose metabolizing enzymes during perfusion of suckling-rat liver. *Am. J. Physiol.* 240: E333, 1981.
51. Schapira F., Kaplan S. C.: Electrophoretic abnormality of galactose-1-phosphate uridylyltransferase in galactosemia. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 35: 451, 1969.
52. Segal S., et al: Liver galactose-1-phosphate uridylyl transferase: activity in normal and galactosemic subjects. *J. Clin. Invest.* 50: 500, 1971.
53. Segal S., Rogers S.: Nucleotide inhibition of mammalian liver galactose-1-phosphate uridylyltransferase. *Biochim. Biophys. Acta* 250: 351, 1971.
54. Shin-Buehring Y. S.: The activity of galactose-1-phosphate uridylyltransferase and galactokinase in human fetal organs. *Pediatr. Res.* 1045, 1977.
55. Shin-Buehring Y. S., et al: Prenatal diagnosis of galactosemia and properties of galactose-1-phosphate uridylyltransferase in erythrocytes of galactosemic variants as well as in human fetal and adult organs. *Clin. Chim. Acta* 14: 128, 1983.
56. Stifel F. B., et al: Dietary regulation of galactose metabolizing enzymes: adaptive changes in rat jejunum. *Science* 162: 692, 1968.
57. Tedesco T. A., Mellman J.: Galactose-1-phosphate uridylyltransferase and galactokinase activity in cultured human diploid fibroblasts and peripheral blood leucocytes. I. Analysis of transferase genotypes by the ratio of activities of the two enzymes. *J. Clin. Invest.* 48: 2390, 1969.
58. Tedesco T. A.: Human galactose-1-phosphate uridylyltransferase: purification, antibody production, and comparison of the wild type, Duarte variation, and galactosemia gene products. *J. Biol. Chem.* 247: 6631, 1972.
59. Vink C. D. L., Kroes A. A.: Liver function and age. *Clin. Chim. Acta* 4: 674, 1959.
60. Walker D. G., Khan H. H.: Some properties of galactokinase in developing rat liver. *Biochem J.* 108: 169, 1968.
61. Williams V. P.: Purification and some properties of galactose-1-phosphate uridylyltransferase from human red cells. *Arch. Biochem. Biophys.* 191: 182, 1978.
62. Wu H. C. P., Kalckar H. M.: Endogenous induction of the Gal operon in *E. coli* K-12. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 55: 622, 1966.
63. Wu S. W., et al: Human galactose-1-phosphate uridylyl transferase. *J. Biol. Chem.* 249: 7058, 1974.
64. Zacchello F., et al: Induction of galactokinase in fibroblasts from heterozygous and homozygous subjects. *Nature* 239: 95, 1972.
65. Ziegenhorn J., et al: Molar absorptivities of NADH and NADPH. *Clin. Chem.* 22: 151, 1976.