

Síndromes de Deficiência Cerebral de Creatina

Cerebral Creatine Deficiency Syndromes



Rui MALHEIRO, Luísa DIOGO, Paula GARCIA, Isabel FINEZA, Guiomar OLIVEIRA
Acta Med Port 2012 Nov-Dec;25(6):389-398

RESUMO

Introdução: As síndromes de deficiência cerebral de creatina (OMIM 300036) são um grupo de patologias recentemente descritas, caracterizadas por defeitos congénitos no metabolismo da creatina. A apresentação clínica compreende um espectro variado de perturbações do neurodesenvolvimento. Os baixos níveis de creatina cerebral verificados nestes doentes devem-se a diferentes mutações nos genes que codificam as enzimas de síntese da creatina [arginina:glicina amidinotransferase (AGAT, EC 2.1.4.1), e metiltransferase do ácido guanidinoacético (GAMT, EC 2.1.1.2)], AGAT e GAMT, respectivamente, ambas de transmissão autossómica recessiva, ou o seu transportador (CT1), SLC6A8, de transmissão ligada ao cromossoma X.

Objectivo: Caracterizar o espectro de apresentação clínica e laboratorial dos doentes com o diagnóstico da síndrome de deficiência de creatina cerebral seguidos no Hospital Pediátrico Carmona da Mota, bem como a sua orientação diagnóstica e terapêutica. A divulgação destes erros inatos do metabolismo enquanto doenças neurológicas, nomeadamente do neurodesenvolvimento, entre a comunidade médica é outro dos propósitos almejados.

Material e Métodos: Análise retrospectiva dos processos clínicos de doentes com o diagnóstico de deficiência cerebral da creatina seguidos no Hospital Pediátrico.

Resultados: Foram identificados doze doentes com défice cerebral da creatina pertencentes a sete famílias. Cinco apresentam deficiência de metiltransferase do ácido guanidinoacético e sete do transportador de creatina. Têm actualmente entre dois e 38 anos. Os principais motivos de consulta foram: atraso global de desenvolvimento em sete doentes, dois dos quais também apresentavam epilepsia, e atraso da linguagem em outros dois. Apenas num caso o motivo de consulta foi défice de interacção social e de comunicação. Em todos os casos se registou um quociente de desenvolvimento global na faixa da deficiência intelectual. O estudo imagiológico demonstrou o padrão patognomónico destas síndromes em oito doentes. No estudo genético foram identificadas mutações nos genes GAMT ou SLC6A8 nos doze casos.

Conclusões: A suspeita de deficiência de creatina cerebral deve ser considerada em todos os casos de atraso de desenvolvimento psicomotor sem outra causa evidente. A terapêutica pré-sintomática tem mostrado resultados promissores em algumas crianças com défice cerebral de creatina, sobretudo nos défices de GAMT. A elevada taxa de portadores de mutações do gene GAMT em Portugal torna esta anomalia elegível para o rastreio neonatal no nosso País.

ABSTRACT

Introduction: Creatine deficiency syndromes are a recently described group of diseases characterized by inborn errors of creatine metabolism. Clinical features include a spectrum of neurodevelopment disorders of diverse severity. They are characterized by low levels of cerebral creatine caused by different pathogenic mutations concerning the genes coding for creatine synthesis enzymes [arginine:glycine amidinotransferase (AGAT, EC 2.1.4.1) and guanidinoacetate methyltransferase (GAMT, EC 2.1.1.2)], AGAT and GAMT, respectively, or its transporter (CT1 deficiency), SLC6A8. Enzymatic deficiencies are transmitted as autosomal recessive traits, whereas the transporter deficit is X-linked.

Objectives: To characterize the clinical and laboratorial presentation, diagnosis and treatment of cerebral creatine deficiency patients, followed in Hospital Pediátrico Carmona da Mota. The awareness of these inborn errors of metabolism as neurological disorders, namely of neurodevelopment, among the medical community is a secondary aim of the present work.

Methods and Material: Retrospective analysis of the clinical files of patients followed in our Hospital and diagnosed with cerebral creatine deficiency syndrome.

Results: Twelve patients belonging to seven different families were diagnosed with creatine deficiency syndromes. Five presented GAMT deficiency and seven CT1 deficiency. Present ages are 2 to 38 years old. The most common clinical presentations were: global development delay in seven patients (two with epilepsy), and speech delay in two patients. Only one patient had communication and social interaction dysfunction. In all, global development delay in the range of intellectual delay was identified. The pathognomonic pattern of cerebral creatine deficiency in the brain image was demonstrated in eight patients. Pathogenic mutations in GAMT or SLC6A8 genes were identified in all cases.

Conclusions: The suspicion of cerebral creatine depletion must be considered in all children presenting unexplained global psychomotor development delay. Pre-symptomatic therapy has shown promising results, especially in GAMT deficiency patients. The high rate of asymptomatic carriers of GAMT mutations in our population makes this disorder eligible to neonatal screening in Portugal.

INTRODUÇÃO

As síndromes de deficiência de Cr cerebral (Online Mendelian Inheritance in Man - OMIM 300036) constituem um grupo de doenças caracterizadas por defeitos congénitos no metabolismo da Cr. São conhecidos défices das enzimas arginina:glicina amidinotransferase (AGAT, EC 2.1.4.1) e metiltransferase do ácido guanidinoacético (GAMT, EC

R.M., L.D., G.O.: Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra. Coimbra. Portugal.

L.D., P.G., I.F., G.O.: Centro de Desenvolvimento Luís Borges. Hospital Pediátrico Carmona Mota. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. Coimbra. Portugal.

Recebido: 24 de Abril de 2012 - Aceite: 26 de Outubro de 2012 | Copyright © Ordem dos Médicos 2012

2.1.1.2) e do transportador de creatina (CT1), codificados respectivamente pelos genes AGAT, GAMT e SLC6A8.

A síntese de Cr inicia-se no rim a partir dos aminoácidos glicina e arginina, pela acção da enzima AGAT e é finalizada no fígado com a metilação do GAA em Cr, por acção da GAMT.¹ A Cr é transportada para o interior dos principais locais de armazenamento, as células musculares e cerebrais, por um sistema de transporte activo transmembranar. O sistema da Cr, Cr cinase (CK) e fosfocreatina (P-Cr) desempenha um papel importante na transmissão e armazenamento de energia nos sistemas orgânicos, nomeadamente em tecidos como os músculos esquelético e cardíaco, o cérebro, a retina e os espermatozóides, que têm necessidades de energia elevadas e flutuantes¹. Pode ser considerado um sistema de *vaivém* de energia entre os locais de síntese do ATP e aqueles onde este é utilizado.²

No Sistema Nervoso Central (SNC), o sistema Cr/CK está ligado a outras importantes funções tais como o alongamento dendrítico e axonal, a migração dos cones em crescimento, a actividade da Na⁺/K⁺ ATPase, a manutenção do potencial de membrana e a homeostase do cálcio.¹

A Crn é o produto de excreção da Cr, da qual deriva, através de uma reacção espontânea de desidratação com ciclização, sendo eliminada pela urina¹.

Síndromes

Deficiência de GAMT

A deficiência da enzima GAMT (OMIM 601240), localizada predominantemente no fígado e responsável pela metilação do GAA, com formação de Cr, foi a primeira a ser descrita.^{1,3} A apresentação clínica desta síndrome caracteriza-se por atraso nas aquisições precoces do neurodesenvolvimento como a linguagem nos primeiros anos de vida, e mais tarde por défice intelectual, bem como por outros sintomas neurológicos de entre os quais os movimentos extrapiramidais e a epilepsia.^{4,5} Analiticamente, a Cr e a Crn encontram-se diminuídas no plasma e na urina,^{6,7} enquanto que o GAA existe em concentrações elevadas no plasma, na urina e no líquido céfalo-raquidiano (LCR).⁸ A RMCE-esp, demonstra a ausência do pico de Cr no cérebro. O diagnóstico definitivo passa pelo estudo enzimático e/ou pela sequenciação do gene GAMT localizado no cromossoma 19 (19p13.3).² O défice de GAMT apresenta uma elevada frequência em Portugal devido à existência de um possível 'efeito fundador' traduzida pela elevada prevalência da mutação c.59G > C; p.Trp20Ser no gene GAMT, cuja prevalência pontual é de 0,8% em Portugal, com valores superiores nas regiões insulares da Madeira e Açores (1,7%) e na região do grande Porto (1%).⁹

O tratamento deve ser iniciado imediatamente após a confirmação do diagnóstico, dada a possibilidade dos danos cerebrais serem reversíveis. Este consiste na suplementação oral com Cr (350mg a 2,0g/kg/dia) associada a restrição dietética de arginina (15mg/kg/dia) e suplemento de ornitina (100mg/kg/dia).¹⁰

Os resultados do tratamento têm sido descritos como positivos no que diz respeito aos progressos no desenvolvi-

mento psicomotor, aos sintomas extrapiramidais e à epilepsia.¹¹ Nesta sequência está descrita a diminuição do nível de GAA e o aumento da Cr, embora sem normalização dos respectivos valores, nem do pico de Cr cerebral.¹²

Deficiência de AGAT

A enzima AGAT de localização renal tem como função catalizar a reacção que controla a síntese da Cr. É nesta via metabólica que ocorre a formação de GAA e ornitina tendo como substrato a glicina e a arginina.¹⁰

A deficiência de AGAT (OMIM 602360), a causa mais rara de défice de Cr cerebral, manifesta-se também nos primeiros anos de vida por atraso nas aquisições psicomotoras, sendo mais tarde diagnosticado défice intelectual ligeiro a moderado com marcado envolvimento da área da linguagem.¹³

Os dados laboratoriais revelam uma diminuição da excreção urinária de GAA e Cr não existindo alterações plasmáticas.¹⁴ Como nas outras síndromes de défice de Cr cerebral, a RMCE-esp revela ausência ou diminuição marcada do pico de Cr. Os estudos enzimáticos em linfoblastos constituem um bom método para a quantificação da actividade da AGAT. É uma doença muito rara. Do nosso conhecimento foram até à data descritos três casos com uma única mutação (p.W149X) no exão 6 do gene AGAT, localizado no cromossoma 15 (15q15.3).^{2,13}

Há descrição de que o tratamento precoce com suplemento de Cr (400 mg/kg/dia) pode prevenir sequelas neurológicas,¹⁵ melhorando a aquisição de capacidade motora, mas os progressos no desenvolvimento intelectual foram menos evidentes.^{16,17}

Deficiência do transportador de creatina (CT1)

O gene SLC6A8 no locus Xp28 tem expressão na maioria dos tecidos, embora com graus de envolvimento diferente, sendo de maior relevância no músculo esquelético e no rim e menor no cérebro.¹⁸ Este gene codifica a proteína do CT1 Na⁺/Cl⁻ dependente, essencial para o transporte activo de Cr para o interior das células.¹

Como patologia ligada ao cromossoma X, o fenótipo irá depender da expressão genética. Esta é influenciada pelo fenómeno de inactivação aleatória do cromossoma X, que resulta num mosaico genético. As mulheres podem ser assintomáticas ou apenas ligeiramente afectadas, enquanto os doentes do sexo masculino são atingidos de um modo moderado a grave.¹⁹

O défice de CT1 (OMIM 300036) pode apresentar-se como atraso na linguagem, comportamento com características de autismo, défice intelectual de ligeiro a moderado e epilepsia. Analiticamente, detecta-se um elevado ratio Cr/Crn na urina e o teste de captação em fibroblastos demonstra uma baixa quantidade ou mesmo ausência de Cr intracelular. Tal como nos outros défices enzimáticos já descritos, a Ressonância Magnética Cranioencefálica Protónica com Espectroscopia (RMCE-esp) revela ausência de pico de Cr cerebral e o estudo genético permite a confirmação ao detectar mutações no gene SLC6A8.²⁰

Não existe ainda tratamento eficaz para esta doença. A suplementação de Cr não resulta em aumento cerebral do seu nível. Alguns estudos indicam que a suplementação com arginina poderá estimular a síntese cerebral de Cr.^{21,22} No entanto, o resultado do tratamento em monoterapia na reposição dos níveis cerebrais é limitado.¹⁸ Foi demonstrado recentemente que a Cr atravessa a barreira hematoencefálica, embora com pouca eficiência, e que nem toda a Cr cerebral seria de origem periférica, uma vez que as enzimas de síntese se expressam nas células de muitas estruturas cerebrais, embora não sejam co-expressas nas mesmas células, o que implica a necessidade de transferir o GAA entre os neurónios que expressam a AGAT e os que expressam a GAMT. Este transporte necessitaria do CT1.²³

MATERIAL E MÉTODOS

Procedeu-se à análise retrospectiva dos processos clínicos de doze crianças e adultos jovens, seguidos no Hospital Pediátrico com o diagnóstico de deficiência cerebral de Cr.

Os doentes incluídos neste estudo cumprem os seguintes critérios de diagnóstico: a) clínica de patologia do neurodesenvolvimento sugestiva de défice intelectual ou autismo; b) níveis de GAA e/ou Cr alterados na análise da urina, nomeadamente, aumento dos níveis de GAA e diminuição da Cr ou aumento da relação Cr/Crn; c) RMCE-esp demonstrando ausência ou marcada diminuição do pico de Cr cerebral; d) identificação da alteração genética subjacente.

Procedeu-se à colheita dos seguintes dados: idade e motivo da primeira consulta relacionada com sinais e sintomas do neurodesenvolvimento; antecedentes pré, perinatais e pós-neonatais, tendo em conta, especificamente, as aquisições precoces do neurodesenvolvimento como a idade do sentar sem apoio, da marcha independente e das primeiras palavras com significado, bem como pesquisa de história de epilepsia (dois ou mais episódios críticos em apirexia). Reviu-se a história familiar. Foram colhidos dados do exame físico como avaliação somática (pesquisa de dismorfismos), medidas antropométricas e exame neurológico clássico. Colheu-se ainda os dados da avaliação do neurodesenvolvimento - quociente de desenvolvimento global (QDG) - pela Escala de Desenvolvimento de Ruth Griffiths²⁴ ou pela escala de Growing Skills II,²⁵ e a análise do comportamento adaptativo pela Escala de Comportamento Adaptativo de Vineland (valor normal: média ± 1 desvio padrão - 100 ± 15)²⁶. A doente adulta foi submetida a avaliação do quociente intelectual global (QIG) com a Wechsler Adult Intelligence Scale (WAIS) III.²⁷

Considerou-se um QDG /QIG normal se superior ou igual a 70 (média ± 1 desvio padrão - 100 ± 15), défice intelectual ligeiro (50 a 69), moderado (35 a 49) severo (34 a 20) e profundo (inferior a 20), de acordo com a Classificação Internacional de Doenças (CID-10).

O diagnóstico de perturbação do espectro do autismo foi baseado nas escalas *gold standard* para o efeito [Autism Diagnostic Interview-Revised (ADI-R)²⁹ e Autism Diagnostic

Observation Schedule (ADOS)]³⁰ bem como pelo julgamento clínico. Considerou-se o diagnóstico de autismo típico nos casos em que tanto a ADI-R como a ADOS apresentavam cotações positivas para o efeito e autismo atípico quando apenas um destes instrumentos apresentou resultado positivo.

Colheu-se informação referente aos resultados dos exames complementares: EEG, RMCE, TAC-CE, determinação da concentração urinária de GAA, Cr e Crn (em amostras aleatórias ou de urina de 24 horas, colhida quando os resultados em amostra ocasional foram inconclusivos), aminoácidos plasmáticos, cariótipo de linfócitos do sangue periférico, estudo molecular da síndrome do X-frágil, estudos funcionais em fibroblastos em cultura (obtidos por biópsia de pele) e estudo dos genes GAMT ou SLC6A8, com respectivo ano de realização. Reviu-se ainda a terapêutica instituída e a evolução clínica e laboratorial.

RESULTADOS

Entre os anos 2003 e 2010 foram identificados doze doentes com défice cerebral de Cr pertencentes a sete famílias. Cinco têm deficiência de GAMT (quatro são do sexo masculino) e sete apresentam défice do CT1 (dois são do sexo feminino). Têm actualmente entre dois e 38 anos de idade cronológica. (Tabelas 1 e 2)

Nas tabelas 1 e 2 resumem-se os dados clínicos do grupo. As doentes 8 e 9 são, respectivamente, a mãe e uma irmã dos doentes 6 e 7 que são gémeos monozigóticos. Foram diagnosticadas na sequência do estudo familiar e ambas apresentavam problemas do neurodesenvolvimento³¹.

A primeira consulta foi motivada por problemas do neurodesenvolvimento em dez doentes e ocorreu entre os doze meses e os cinco anos. Os principais motivos de consulta foram o atraso global de desenvolvimento (em sete doentes, sendo que dois destes também apresentavam epilepsia) e o atraso da linguagem (em dois). No caso 10, o motivo de consulta foi especificamente défice de interacção social e de comunicação. Foi diagnosticada perturbação do espectro do autismo (PEA) em cinco casos, três com défice do CT1 e dois com défice de GAMT.

Relativamente ao período pré-natal, destaca-se que se tratou de partos pré-termo nos casos 2 e 11 (às 34 e 35 semanas de gestação, respectivamente). Em três doentes, o parto foi distócico (ventosa nos casos 9 e 12, e cesariana no 2). O peso ao nascimento foi adequado à idade gestacional com excepção dos casos 6 e 7. Não houve registo de incidentes no período neonatal, excepto no doente 12, em que foi necessário reanimação superficial. Em nenhum dos casos havia referência a incidentes na primeira semana de vida, nomeadamente dificuldades na sucção.

Tratava-se do primeiro filho em seis das sete famílias. A história familiar é positiva em duas das quatro famílias com défice de CT1, atingindo quatro indivíduos numa delas. Na outra, há uma tia-avó materna com défice intelectual. Numa terceira família com défice de CT1 (caso 10), a mãe apresenta a mutação, sem tradução clínica aparente. Os

Tabela 1 – Dados clínicos dos cinco sujeitos com deficiência da GAMT

	caso 1	caso 2	caso 3	caso 4	caso 5
Ano nascimento/Idade actual/sexo	1992 / 20 A / F	1983 / 29 A / M	1986 / 26 A / M	1981 / 31 A / M	1986 / 24 A / M
Idade 1ª Consulta/MC	28m AL	30 m Epilepsia AGD	30 m Epilepsia AGD	12 m AGD	36 m AL
Antecedentes Pré e Perinatais					
G P / IG Tipo de parto PN	G1P1 / 37S Eutócico Normal	G1P1 / 34S Distócico Normal	G2P2 / 40S Eutócico Normal	G1P1 / 41S Eutócico Normal	G2P2 / N/A Eutócico Normal
IA 1º/5ºmin	N/A	9/8	9/7	N/A	N/A
Antedentes Familiares	Mãe: problemas de aprendizagem e meio irmão (materno): AL	Irmão de 3	Irmão de 2	Irmão de 5	Irmão de 4
Aquisições Neuro-Desenvolvimento					
Sentar sem apoio	6 m	8 m	8 m	20 m	N/A
Marcha independente	12 m	15 m	18 m	22 m	N/A
1ª palavras com significado	18 m	12 m	N/A	N/A	N/A
Aval.Func.					
CAC	43	N/A	N/A	N/A	N/A
QDG	43*	38*	44*	33*	40*
Exame Neurológico / Epilepsia	Normal / Não	Normal / Sim	Ataxia / Sim	Normal / Sim	Normal / Sim
Autismo / Tipo	Não	Não	Sim / Típico	Sim / Típico	Não
Medicação	Cr Ornitina Restrição de arginina	Cr Valproato de sódio	Cr Valproato de sódio Clonazepam	Cr Valproato de sódio	Cr Valproato de sódio Clonazepam

A - anos; **Aval.Func.** – Avaliação Funcional; **AGD** – Atraso Global de Desenvolvimento; **AL** – Atraso de linguagem; **CAC** – Comportamento Adaptativo Composto; **Cr** – creatina; **IG** – idade gestacional; **F** – feminino; **G** – Gestação; **IA** – Índice de Apgar; **M** – masculino; **m** - meses; **MC** – Motivo de Consulta; **N/A** – Dado não avaliado; **P** – Parto; **PN** - Pósneonatal; **QDG*** - Quociente Desenvolvimento global (Escala de Griffiths); **QDG**** - Quociente Desenvolvimento Global (Escala de Growing Skills II); **S** – Semanas; **1ª p** – primeiras palavras

antecedentes familiares são relevantes nas três famílias com défice de GAMT, duas com dois pares de irmãos afectados (casos 2,3 e 4,5) e na terceira (caso 1) a mãe teve dificuldades de aprendizagem e o meio-irmão materno apresentava atraso da linguagem.

Quanto aos marcos precoces do desenvolvimento psicomotor, nos dez casos em que houve acesso a dados considerados fidedignos, verificou-se que a capacidade motora de sentar sem apoio ocorreu entre os seis e os 20 meses (mediana oito meses), a aquisição de marcha independente, entre os 12 e os 24 meses (mediana 22,5 meses) e as primeiras palavras com significado foram pronunciadas en-

tre os 12 e os 30 meses (mediana 18 meses).

Em todos os doentes foi registado um QDG na faixa da deficiência intelectual, verificando-se quatro casos com défice ligeiro, quatro com deficiência moderada e os outros quatro com deficiência severa a profunda. (Tabelas 1 e 2)

No exame neurológico, relativamente à área motora, detectou ataxia em três doentes. Em quatro dos cinco doentes com défice de GAMT foi diagnosticada epilepsia. As convulsões, iniciadas entre os dois e os cinco anos, foram generalizadas e de fácil controlo terapêutico com valproato de sódio, em monoterapia ou associado a clonazepam. (Tabelas 1 e 2)

Tabela 2 – Dados clínicos dos sete sujeitos com deficiência de transportador de creatina

	caso 6	caso 7	caso 8	caso 9	caso 10	caso 11	caso 12
Ano nascimento / Idade actual / sexo	1990 / 22 A / M	1990 / 22 A / M	1972 / 40 A / F	2006 / 6 A / F	2001 / 11 A / M	2002 / 10 A / M	2008 / 4 A / M
Idade 1ª Consulta / MC	15 m AGD	15 m AGD	N/A	N/A	5 A Def. Interação	12 m AGD	12 m AGD
Antecedentes Pré e Perinatais	G1P1 / 39S Eutócico ACIU	G1P2 / 39S Eutócico ACIU	N/A	G3P4 / 40S Distócico Normal	G1P1 / 37S Eutócico Normal	G3P3 / 35S Eutócico Normal	G1P1 / 40S Distócico Normal
IA 1º/5ºmin	9/10	9/10	N/A	N/A	9/10	9/10	5/9 Reanimação com máscara
Antedentes Familiares	Gémeo de 7; filho de 8	Gémeo de 6; filho de 8	Mãe de 6, 7 e 9	Meia – irmã materna de 6 e 7; filho de 8	Mãe portadora assintomática da mutação	Sem interesse clínico	Tia avó materna com défice intelectual
Sentar sem apoio	N/A	N/A	N/A	N/A	9 m	8 m	9 m
Aquisições Neuro-Desenvolvimento							
Marcha independente	24 m	24 m	N/A	24 m	18 m	24 m	23 m
1ªs palavras com significado	N/A	N/A	N/A	N/A	12 m	30 m	21 m
Aval.Func.							
CAC	23	23	N/A	N/A	66	39	59
QDG / QI	N/A	N/A	61(QI)	56**	69*	24*	65*
Exame Neurológico / Epilepsia	Normal / Não	Normal / Não	Normal / Não	Normal / Não	Normal / Não	Ataxia / Não	Ataxia / Não
Autismo / Tipo	Não	Não	N/A	Não	Sim / Atípico	Sim / Atípico	Sim / Atípico
Medicação	Não	Não	Não	Cr Arginina Glicina	Cr Arginina	Não	Não

A - anos; ACIU – Atraso de crescimento intrauterino; Aval.Func. – Avaliação Funcional; AGD – Atraso Global de Desenvolvimento; CAC – Comportamento Adaptativo Composto (Escala de Vineland); Cr – creatina; IG-idade gestacional; F – feminino; G – Gestação; IA – Índice de Apgar; M – masculino; m - meses; MC – Motivo de Consulta; N/A – Dado não avaliado; P – Parto; PN - Pósneonatal; QDG* - Quociente Desenvolvimento global (Escala de Griffiths); QDG** - Quociente Desenvolvimento Global (Escala de Growing Skills II); QI – Quociente de Inteligência (WAIS III) S – Semanas; 1ª p – primeiras palavras

Nenhum dos indivíduos revelava outras alterações do exame físico com excepção do caso 5 que apresentava aspecto miopático, com face longa, hipoplasia malar e diminuição generalizada das massas musculares.

Os doentes com défice de CT1 não foram sujeitos a tratamento ou fizeram suplemento com monohidrato de Cr (casos 9 e 10). O caso 9 encontra-se actualmente sob suplemento de arginina e glicina, além de Cr.

Todos os doentes com défice de GAMT (casos 1 a 5), foram submetidos a suplemento com Cr. No caso 1 foi prescrita dieta com restrição de arginina e suplemento de ornitina, com resultados modestos¹¹.

Os exames laboratoriais realizados encontram-se registados nas Tabelas 3 e 4.

O EEG foi efectuado em todos os doentes com défice de GAMT, revelando alterações, com actividade paroxística em três. O EEG foi normal nos três doentes com défice de CT1.

O estudo cromossómico de sangue periférico com bandas de alta resolução e o estudo molecular da síndrome do X-frágil foram normais nos dez casos em que foram realizados. Alterações inespecíficas na cromatografia dos aminoácidos plasmáticos foram observadas em quatro dos dez doentes estudados.

Tabela 4 – Dados laboratoriais dos sete sujeitos com deficiência do transportador de creatina

	caso 6	caso 7	caso 8	caso 9	caso 10	caso 11	caso 12
EEG	Normal	Normal	N/A	N/A	N/A	Normal	N/A
Cariótipo	46,XY	46,XY	N/A	N/A	46,XY	46,XY	46,XY
Síndrome do X-frágil	Negativo	Negativo	N/A	N/A	Negativo	Negativo	Negativo
AA/AO	Normais	Normais	N/A	N/A	Normais	Normais	Normais
Ano	2006	2006	N/A	N/A	2010	2009*	2010
Cr (1432-5952 mmol/L)	N/A	N/A	N/A	2131	2233	27807 (†)	3901
Crn (5-19,5 mmol/L)	2,2 (‡)	1,84 (‡)	N/A	3,4 (‡)	1,2 (‡)	3,6 (‡)	0,7 (‡)
Ratio (0,04-0,56 mmol/mmol/Crn)	2,24 (†)	1,84 (†)	N/A	0,63 (†)	1,86 (†)	7,72 (†)	5,57 (†)
GAA (18-130 mmol/mmol Crn)	42	40	N/A	40	69	269 (†)	140 (†)
RMCE	Hipoplasia do corpo caloso	Hipoplasia do corpo caloso	N/A	Normal	Hipoplasia do corpo caloso	Normal	Normal
RMCE-esp	Ausência do pico de Cr cerebral	N/A	N/A	Ausência do pico de Cr cerebral	Ausência do pico de Cr cerebral	Ausência do pico de Cr cerebral	Diminuição do pico de Cr cerebral
Estudo Gene SLC6A8 (Ano)	c.1456C>T (2008)	c.1456C>T (2008)	c.1456C>T	c.1456C>T	c.1661>T (2007)	c.321_323delCTT (2008)	c.1519_1543del (de novo) (2011)

AA – Aminoácidos; AO – Ácidos orgânicos; Cr – Creatina; Crn – Creatinina; EC – Exames complementares; EEG – Electroencefalograma; GAA – ácido guanidinoacético; N/A – Dado não avaliado; Ratio – relação Cr / Crn; RMCE-esp - Ressonância Magnética Cranioencefálica protónica com Espectroscopia; RMCE – Ressonância Magnética cranioencefálica; * - Após terapêutica

Como referido nas tabelas 3 e 4, em todos os doentes com défice de GAMT os valores da Cr urinária pré-tratamento estavam diminuídos e os do GAA, aumentados. Sob tratamento, os valores de GAA mantiveram-se elevados em todos os casos, apesar de se ter verificado aumento do nível da Cr para valores normais. Nos défices de CT1, verificou-se diminuição dos valores de Crn, assim como um aumento da relação Cr/Crn em todos os doentes em que a análise foi realizada (6/7), sendo esta mais ligeira na doente do sexo feminino (caso 9).

Em onze casos foi realizada imagiologia cerebral (Ressonância Magnética Nuclear Cranioencefálica- RMCE em dez e Tomografia Axial Computorizada Cranioencefálica-TAC-CE em um) tendo-se observado alterações pouco significativas em quatro doentes. A RMCE-esp mostrou défice marcado ou ausência do pico da Cr cerebral nos oito casos em que foi efectuada.

Nos quatro doentes em que foi feita a determinação da actividade da GAMT em fibroblastos (casos 2 a 5), esta encontrava-se diminuída ou ausente.

Os estudos genéticos permitiram confirmar o diagnóstico nos doze doentes. O período de tempo entre a primeira consulta e o diagnóstico definitivo variou entre os três e 17 anos (mediana: 15 anos). (Tabelas 3 e 4)

DISCUSSÃO

Desde 2003 que é possível o diagnóstico laboratorial dos défices de Cr cerebral, com base na determinação da concentração urinária do GAA e da Cr. Simultaneamente foi-se vulgarizando entre nós a realização da RMCE-esp nos doentes com quadro neurológico de causa desconhecida. Nos últimos anos, os défices de Cr cerebral têm sido considerados no diagnóstico diferencial das perturbações do neurodesenvolvimento. Os primeiros diagnósticos, referentes aos doentes 2 e 4, foram suscitados pela análise de amostras de urina conservadas durante dez anos no laboratório. Estas foram usadas na implementação da técnica de doseamento do GAA e Cr no então Instituto de Genética Médica do Porto. Tinham sido armazenadas, em 1992 e 1993, pouco antes da publicação do relato do primeiro caso destas síndromes,³ para o estudo de deficiência de adenilossuccinase.

Tanto nos doentes com défice de GAMT como nos que foram diagnosticados com deficiência de CT1, as manifestações clínicas, traduzidas por alterações do neurodesenvolvimento, tiveram um início precoce na infância e apresentaram-se de um modo inespecífico. Foi o atraso global de desenvolvimento psicomotor ou o atraso de linguagem que despertaram a preocupação dos pais e dos médicos em consultas de rotina, tal como tem sido descrito.^{4,10,32}

É bem conhecida a associação entre os défices de GAMT ou de CT1 e as PEA.^{2,10} No nosso grupo de doentes, apenas um caso foi referenciado por suspeita de autismo, com base em problemas de comunicação e interacção social. No entanto, este diagnóstico foi confirmado em cinco dos doze casos, o que pode denotar que a valorização da clínica de défice nas relações sociais em idade precoce é

pouco habitual. Os dois casos de autismo típico estão associados ao défice de GAMT, enquanto os três doentes com autismo atípico apresentam défice de CT1. Poder-se-ia especular um papel da intoxicação cerebral por GAA (presente no défice de GAMT, mas não do de CT1) na patogénese da clínica mais específica do autismo. Não encontramos na literatura referência a esta questão.

A epilepsia faz parte do quadro clínico do défice de GAMT, embora também ocorra nos de CT1, sendo em ambos habitualmente de fácil controlo.^{5,33,34} Atribui-se à neurotoxicidade do GAA a sua causa.⁴ Na presente série, a epilepsia foi observada apenas nos quadros com deficiência de GAMT, atingindo quatro dos cinco doentes com este diagnóstico (80%). Como seria de esperar, a resposta à terapêutica antiepiléptica (em monoterapia ou com associação de dois fármacos) foi favorável em todos.

O diagnóstico de défice intelectual, comum a todos os nossos doentes, com graus de gravidade variável, corrobora os resultados de estudos anteriores sobre os défices de CT1^{4,35,36} e de GAMT.^{4,5}

Apesar de se ter notado alguma uniformidade dos quadros clínicos apresentados por este grupo de doentes, a ausência de relação entre o fenótipo e o genótipo e a variabilidade das manifestações clínicas ficou bem demonstrada na família dos gémeos com défice de CT1.³¹

É conhecido que os défices de GAMT se associam mais frequentemente que os outros défices de Cr cerebral a alterações do exame neurológico, nomeadamente motoras.^{2,5,10} Nos casos em discussão, a marcha atáxica foi registada tanto nos doentes com défice de CT1 (2/7) como nos que apresentavam défice de GAMT (1/5).

Os achados analíticos foram os esperados, tendo em conta o diagnóstico final, antes de qualquer intervenção terapêutica específica, nomeadamente suplementação com Cr. Assim, nos casos de défices de GAMT registou-se diminuição dos valores de Cr e elevação do GAA na urina, enquanto que nos défices de CT1 se detectou a típica elevação do rácio Cr/Crn (à custa da diminuição dos valores de Crn e/ou elevação da Cr), com GAA normal.^{8,37,38} Por haver resultados falsos positivos ou com valores de interpretação duvidosa, a hipótese de se tratar de um défice cerebral da Cr foi reforçada pelo estudo por RMCE-esp. Nos casos em que se evidenciou diminuição acentuada ou ausência do pico de Cr cerebral, o diagnóstico foi confirmado pelo estudo enzimático ou genético. A ausência de pico de Cr cerebral, embora não discriminativa do tipo de défice em causa, é patognomónica destas síndromes.^{8,39}

A determinação da actividade da GAMT em fibroblastos comprovou o diagnóstico nos casos em que havia aumento do GAA e diminuição da Cr urinária. Aquela determinação não foi realizada no caso de défice de GAMT de diagnóstico mais recente. De facto, o acesso directo ao estudo do gene GAMT em doentes com alterações típicas na urina, a par da redução ou ausência do pico da Cr cerebral, torna possível dispensar aquele ensaio enzimático.

Os estudos genéticos nos doentes com défice de CT1 demonstraram diferentes mutações no gene SLC6A8. Por

outro lado, em todos os doentes com défice de GAMT foi detectada a mutação mais frequente em Portugal, c.59G > C.⁹ No caso 1 foi ainda observada a presença de uma segunda mutação, c. 521G > A. A importância da hereditariedade é reforçada pela existência de dois pares de irmãos com défice de GAMT (casos 2,3 e 4,5). Nos défices de CT1 é de salientar a transmissão da mutação da mãe (caso 8) a três dos seus quatro filhos. Curiosamente, na família do caso 10, a mãe não é clinicamente afectada, apesar de ser portadora da mutação, facto que pode ser atribuível à inactivação aleatória do cromossoma X.

De notar o período de tempo que decorreu entre a primeira consulta e o diagnóstico definitivo. Nos pacientes mais velhos, este foi consideravelmente maior (17 anos) em relação aos pacientes mais novos (3 anos). A diminuição deste intervalo de tempo deve-se à crescente divulgação deste grupo de patologias e dos métodos mais eficazes para o seu estudo. Espera-se que menos tempo de demora seja acompanhado de diminuição das sequelas, causadas pela instituição tardia da terapêutica, e de melhores resultados em termos de prognóstico da doença. Contudo, apesar da maior precocidade no diagnóstico, excepto nos casos de défice de AGAT, o tratamento das síndromes por défice da Cr cerebral tem apenas resultados modestos.

Nos défices de GAMT preconiza-se a restrição em arginina e glicina e a suplementação com ornitina e Cr. Tanto a restrição dos precursores do GAA, como a administração de ornitina e Cr, ao inibirem a AGAT, levariam a uma diminuição do GAA, metabolito reconhecidamente neurotóxico. Simultaneamente, o suplemento de Cr supriria o seu défice nestes doentes. No entanto, apesar disso, os níveis de GAA mantêm-se elevados, nomeadamente a nível cerebral, o que agrava o prognóstico neurológico.² Nos quatro doentes mais velhos com défice de GAMT, de diagnóstico tardio, fez-se apenas suplemento de Cr. O efeito terapêutico reflectiu-se no aumento das massas musculares e do peso, na melhoria do comportamento e das crises convulsivas apesar da persistência de valores elevados de GAA urinários. Na doente mais jovem, a quem foi instituído o tratamento adequado foi possível documentar algum efeito benéfico em termos de aprendizagem.¹¹

Em dois dos doentes com défice de CT1 em que se instituiu suplemento de Cr não se registou qualquer melhoria clínica. A associação com a glicina e a arginina seria mais eficaz, nomeadamente, em caso de epilepsia de difícil controlo.³⁴ Na doente mais jovem, que está sob tratamento com Cr, glicina e arginina o tempo de seguimento é ainda muito reduzido.

As síndromes de deficiência de Cr manifestam-se nos primeiros anos de vida de um modo inespecífico, com atraso global do desenvolvimento psicomotor ou da linguagem, ou por alteração na comunicação e relação social, com ou sem epilepsia e doença do movimento. Estas síndromes devem ser consideradas no diagnóstico diferencial das causas das doenças do neurodesenvolvimento, a par de outras como a síndrome do X frágil e as cromossomopatias.

Há referência de que em Portugal predominam os casos de deficiência de GAMT.⁹ Na nossa casuística observa-se um número mais elevado de portadores de deficiência de CT1, o que pode reflectir que este grupo se encontra subdiagnosticado e menos conhecido na comunidade médica. Uma apresentação clínica comum ao grupo em estudo, e à generalidade dos portadores destas síndromes, e que pode ser uma importante pista diagnóstica é o atraso da linguagem.

A terapêutica pré-sintomática tem mostrado resultados promissores em doentes com défice de síntese de Cr, pelo que todo o investimento deve ser feito num diagnóstico o mais precoce possível.² A elevada taxa de portadores de mutações do gene GAMT em Portugal torna esta doença metabólica candidata ao rastreio neonatal. Apesar de ainda não existir um teste padrão de rastreio para recém-nascidos, estudos recentes indicam que os níveis de Cr e GAA podem ser facilmente detectados por espectroscopia em amostras plasmáticas.²

CONCLUSÃO

A suspeita das síndromes de deficiência de Cr cerebral deve ser considerada em todas as crianças que apresentam com atraso de desenvolvimento psicomotor inexplicado, associado ou não a PEA, epilepsia ou doença do movimento. Trata-se de doenças genéticas com clínica limitada ao sistema nervoso central, com critérios de diagnóstico bem definidos, parcialmente tratáveis e com diagnóstico pré-natal possível, o que torna mandatário o seu diagnóstico atempado. Embora raras, o diagnóstico precoce baseia-se, actualmente, no reconhecimento das manifestações clínicas, que são muito inespecíficas e implicam um vasto diagnóstico diferencial de possíveis causas. O seu conhecimento, nomeadamente o do défice de CT1 como causa frequente de deficiência intelectual ligado ao cromossoma X, e da relativa frequência do défice de GAMT em Portugal, é assim da maior relevância entre a comunidade médica.

AGRADECIMENTOS

L. Vilarinho, L. Almeida, C. Valongo e D. Quelhas – do Centro de Genética Médica Jacinto de Magalhães - INSA-Porto, Portugal – pelo doseamento de metabolitos urinários dos doentes.

G. Salomons e C. Jacobs- da Metabolic Unit, Department of Clinical Chemistry, VU University Medical Center Amsterdam, The Netherlands - pelos estudos funcionais e genéticos dos doentes.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram a inexistência de conflitos de interesse.

FONTES DE FINANCIAMENTO

Não existiram fontes externas de financiamento para a realização deste artigo.

REFERÊNCIAS

- Wyss M, Kaddurah-Daouk R: Creatine and creatinine metabolism. *Physiol Rev.* 2000;80:1107-1213.
- Longo N, Ardon O, Vanzo R, Schwartz E, Pasquali M. Disorders of creatine transport and metabolism. *Am J Med Genet.* 2011;157:72-8.
- Stöckler S, Holzbach U, Hanefeld F, Marquardt I, Helms G, Requart M, et al. Creatine deficiency in the brain: a new, treatable inborn error of metabolism. *Pediatr Res.* 1994;36:409-13.
- Schulze A. Creatine deficiency syndromes. *Mol Cel Biochem.* 2003;244:143-50.
- Dhar S, Scaglia F, Li F, Smith L, Barshop BA, Eng CM, et al. Expanded clinical and molecular spectrum of guanidinoacetate methyltransferase (GAMT) deficiency. *Mol Genet Metab.* 2009;96:38-43.
- Stöckler S. Creatine deficiency syndromes: A new perspective on metabolic disorders and diagnostic challenge. *J Pediatr.* 1997;131:510-1.
- Carducci C, Birarelli M, Leuzzi V, Battini R, Cioni G, Antonozzi I. Guanidinoacetate and creatine plus creatinine assessment in physiologic fluids: an effective diagnostic tool for the biochemical diagnosis of arginine:glycine amidinotransferase and guanidinoacetate methyltransferase deficiencies. *Clin Chem.* 2002;48:1772-8.
- Stromberger C, Bodamer O, Stöckler-Ipsiroglu S. Clinical characteristics and diagnostic clues in inborn errors of creatine metabolism. *J Inherit Metab Dis.* 2003;26:299-308.
- Almeida L, Vilarinho L, Darmin P, Rosenberg EH, Martinez-Muñoz C, Jakobs C, et al. A prevalent pathogenic GAMT mutation (c.59G>C) in Portugal. *Mol Genet Metab.* 2007;91:1-6.
- Nasrallah F, Feki M, Kaabachi N. Creatine and Creatine Deficiency Syndromes: Biochemical and Clinical Aspects. *Pediatr Neurol.* 2010;42:163-71.
- Loureiro S, Gata L, Almeida J, Lontro R, Diogo L, Oliveira G. Déficit cognitivo por defeito da síntese de creatina. *Acta Pediatr Port.* 2010;41:131-4.
- Schulze A, Hoffmann G, Bachert P, Kirsch S, Salomons GS, Verhoeven NM, et al. Presymptomatic treatment of neonatal guanidinoacetate methyltransferase deficiency. *Neurology.* 2006;67:719-21.
- Battini R, Leuzzi V, Carducci C, Tosetti M, Bianchi MC, Item CB, et al. Creatine depletion in a new case with AGAT deficiency: clinical and genetic study in a large pedigree. *Mol Genet Metab.* 2002;77:326-31.
- Arias A, Garcia-Villoria J, Ribes A. Guanidinoacetate and creatine/creatinine levels in controls and patients with urea cycle defects. *Mol Genet Metab.* 2004;82:220-3.
- Battini R, Alessandri M, Leuzzi V, Moro F, Tosetti M, Bianchi MC, et al. Arginine:glycine amidinotransferase (AGAT) deficiency in a new born: early treatment can prevent phenotypic expression of the disease. *J Pediatr.* 2006;148:828-30.
- Schulze A, Hess T, Wevers R, Mayatepek E, Bachert P, Marescau B, et al. Creatine deficiency syndrome caused by guanidinoacetate methyltransferase deficiency: Diagnostic tool for a new inborn error of metabolism. *J Pediatr.* 1997;131:626-31.
- Schulze A, Ebinger F, Rating D, Mayatepek E. Improving treatment of guanidinoacetate methyltransferase deficiency: reduction of guanidinoacetic acid in body fluids by arginine restriction and ornithine supplementation. *Mol Genet Metab.* 2001;74:413-9.
- Fons C, Sempere A, Arias A, López-Sala A, Póo P, Pineda M, et al. Arginine supplementation in four patients with X-linked creatine transporter defect. *J Inherit Metab Dis.* 2008;31:724-8.
- Salomons G, Van Dooren S, Verhoeven N, Cecil KM, Ball W, DeGrauw TJ, et al. X-Linked Creatine-Transporter Gene (SLC6A8) Defect: A New Creatine-Deficiency Syndrome. *Am J Hum Genet.* 2001; 68: 1497-1500.
- Salomons G, Van Dooren S, Verhoeven N, Marsden D, Schwartz C, Cecil KM, et al. X-linked creatine transporter defect: An overview. *J Inherit Metab Dis.* 2003;26:309-18.
- Chilosi A, Leuzzi V, Battini R, Tosetti M, Ferretti G, Comparini A, et al. Treatment with L-Arginine improves neurophysiological disorders in child with creatine transporter defect. *Neurocase.* 2008;14:151-61.
- Leuzzi V, Alessandri M, Casarano M, Battini R, Cioni G. Arginine and glycine stimulate creatine synthesis in creatine transporter 1-deficient lymphoblasts. *Anal Biochem.* 2008;375:153-5.
- Braissant O, Henry H, Béard E, Uldry J. Creatine deficiency syndromes and the importance of creatine synthesis in the brain. *Amino Acids.* 2011;40:1315-24.
- Griffiths R. The abilities of young children. London: University of London Press; 1984.
- Bellman M, Lingam S, Aukett A. Schedule of growing skills. 2nd ed. London: Nelson Publishing Company; 1996.
- Sparrow S, Balla D, Cicchetti D. Vineland Adaptive Behaviour Scales: Interview Edition, Survey form. Circle pines: : American Guidance Service; 1984.
- Wechsler D. Wechsler Adult Intelligence Scale – Third Edition (WAIS-III): Administration and scoring manual. San Antonio: The Psychological Corporation; 1997.
- World Health Organization. International Classification of Diseases, 10th ed (ICD-10) 2007.[Acedido em 14/04/2011] Disponível em :http://apps.who.int/classifications/icd10/browse/2010/en
- Lord C, Rutter M, Le Couter A. Autistic Diagnostic Interview-Revised: A revised version of a diagnostic interview for caregivers of individuals with possible pervasive developmental disorders. *J Autism Dev Dis.* 1994;24:659-85.
- Lord C, Risi S, Lambrecht L. The Autism Diagnostic Observation Schedule-Generic: A standard measure of social and communication deficits associated with the spectrum of autism. *J Autism Dev Dis.* 2000; 30: 205-23.
- Garcia P, Rodrigues F, Valongo C, Salomons G, Diogo L. Phenotypic variability in a Portuguese family with x-linked creatine transport deficiency. *Pediatr Neurol.* 2012;46:39-41.
- Arias-Dimas A, Vilaseca M, Artuch R, Ribes A, Campistol J. Diagnóstico y tratamiento de los síndromes de deficiencia de creatina cerebral. *Rev Neurol.* 2006;43:302-8.
- Mercimek-Mahmutoglu S, Stöckler-Ipsiroglu S, Adami A, Appleton R, Araújo HC, Duran M, et al. GAMT deficiency – Features, treatment, and outcome in an inborn error of creatine synthesis. *Neurology.* 2006; 67: 480-4.
- Mercimek-Mahmutoglu S, Connolly M, Poskitt K, Horvath GA, Lowry N, Salomons GS, et al. Treatment of intractable epilepsy in a female with SLC6A8 deficiency. *Mol Genet Metab.* 2010;101:409-12.
- Hans K, Salomons G, Tackels-Horne D, Wood T, Taylor H, Schroer R, et al. X-linked mental retardation with seizures and carrier manifestations is caused by a mutation in the creatine-transporter gene (SLC6A8) located in Xq28. *Am J Hum Genet.* 2002;70:1349-56.
- Anselm I, Alkuraya F, Salomons G, Jakobs C, Fulton AB, Mazumdar M, et al. X-linked creatine transporter defect: A report on two unrelated boys with a severe clinical phenotype. *J Inherit Metab Dis.* 2006;29:214-9.
- Almeida L. Creatine and guanidinoacetate: diagnostic markers for inborn errors in creatine biosynthesis and transport. *Mol Genet Metab.* 2004;82:214-9.
- Sykut-Cegielska J, Gradowska W, Mercimek-Mahmutoglu S, Stöckler-Ipsiroglu S. Biochemical and clinical characteristics of creatine deficiency syndromes. *Acta Biochim Pol.* 2004;51:875-882.
- Almeida L, Rosenberg E, Verhoeven N, Jakobs C, Salomons G. Are cerebral creatine deficiency syndromes on the radar screen? *Future Neurol.* 2006;1:637-649.