



# ATRASO MENTAL: DENOMINADOR COMUM DOS DÉFICES DO METABOLISMO DA CREATINA

Carla Valongo

Unidade de Rastreio Neonatal, Metabolismo e Genética  
Departamento de Genética Humana, INSA I.P.

19 de março 2013



## Atraso Mental (AM)

- ▣ Afeta cerca de 3% da população nos países ocidentais.
- ▣ Causas genéticas ainda por esclarecer.
- ▣ O espectro de possíveis causas/diagnósticos é vasto.
- ▣ Diagnóstico é importante pois tem implicações a nível:
  - Tratamento (nas doenças com possível tratamento)
  - Prognóstico
  - Aconselhamento genético

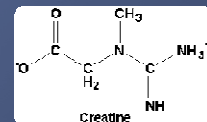
## Atraso Mental (AM)

- ▣ Erros Inatos do Metabolismo (EIM) – 1%
- ▣ Anomalias citogenéticas – 9.5%
- ▣ Anomalias subteloméricas – 4.4%
- ▣ X-frágil – 5.4%
  
- ▣ Apesar dos EIM serem responsáveis por apenas cerca de 1% do AM:
  - doenças com tratamento
  - Pode-se oferecer aconselhamento genético
  - é importante investigar os EIM nos indivíduos com AM de etiologia desconhecida.



- ▣ **AM é um denominador clínico comum nos défices do metabolismo da Creatina.**

## Creatina (Cr)



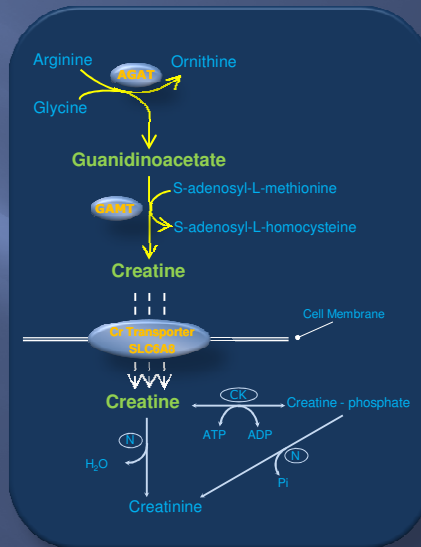
- ▣ A CR e a CR- P desempenham funções importantes no **armazenamento e transferência de energia** em vários tecidos.
- ▣ Atuam como **reservatório dinâmico de fosfatos de elevada energia**, servindo de tampão nas flutuações rápidas da relação ATP/ADP durante a estimulação elétrica do músculo e cérebro.
  
- ▣ Estudos recentes sugerem que a Creatina se comporta como neuromodulador no Sistema Nervoso Central.

## Creatina (Cr)

De onde provém?

- alimentação (carne e peixe)
- sintetizada de forma endógena (fígado, pâncreas e rim)
  - L-arginina-glicina amidinotransferase – **AGAT**
  - guanidinoacetato metiltransferase – **GAMT**

Cr é distribuída para os tecidos e entra na célula através de um transportador específico - **SLC6A8**.



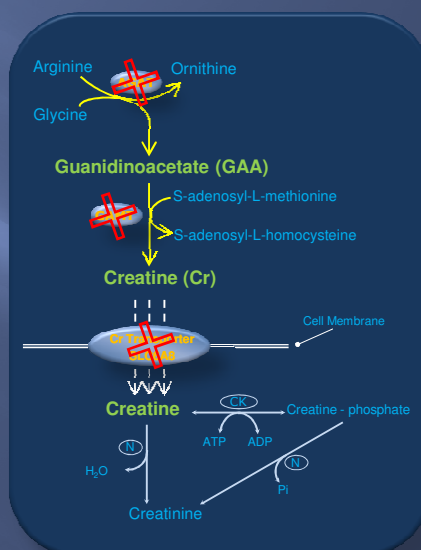
## Défices do metabolismo da creatina

Défices da biosíntese da Cr

- ▣ **Défice em AGAT**
  - GAA e Cr - ↓
- ▣ **Défice em GAMT**
  - GAA - ↑↑ e Cr - N- ↓

Défice do transportador da Cr

- GAA - N e Cr - ↑↑



## Défices da Biossíntese - GAMT

- ▣ Primeiro défice a ser descrito – 1994
- ▣ Enzima expressa-se principalmente no fígado, rim e pâncreas
- ▣ doença autossómica recessiva (*gene locus* 19p13.3)
- ▣ Foram publicados cerca de **52 doentes em todo o mundo**
- ▣ Apresentação clínica heterogénea – fenótipo suave a grave
  - **Atraso mental**/desenvolvimento grave
  - Epilepsia (de difícil controlo)
  - Movimentos extrapiramidais
  - Atraso linguagem
  - Comportamento tipo autista

## Défices do transportador – SLC6A8

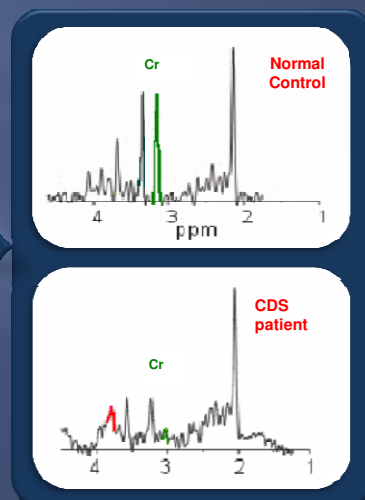
- ▣ Segunda doença a ser descrita – 2001
- ▣ Expressa-se sobretudo no musculo esquelético, rim e cérebro
- ▣ Hereditariedade ligada ao X (*gene locus* Xq28)
- ▣ Foram descritos **>150 doentes em todo o mundo**
- ▣ Apresentação clínica heterogénea – fenótipo suave a grave
  - **Atraso mental**/desenvolvimento
  - Epilepsia
  - Atraso linguagem grave
  - Comportamento tipo autista
- ▣ Estima-se que a prevalência dos défices em SLC6A8 é de 2% na população com AM ligado ao X e de 1% de todos os indivíduos do sexo masculino com AM etiologia desconhecida.

## Défices da Biossíntese - AGAT

- ▣ Terceiro déficit a ser descrito - 2001
- ▣ Enzima tem maior expressão no fígado e pâncreas
- ▣ doença autossômica recessiva (*gene locus* 15q21.1)
- ▣ Foram publicados 7 doentes
  - 4 Italianos
  - 1 americano
  - 2 irmãos Israelitas
- ▣ Clinicamente – fenótipo suave a moderado
  - **Atraso mental**/desenvolvimento
  - Epilepsia
  - Atraso linguagem

## Défices do metabolismo da creatina

- ▣ Os doentes apresentam uma diminuição/ausência da pool de creatina cerebral, pode ser detectada por  $^1\text{H}$ -MRS.



## Tratamento

### ▣ Défice em AGAT

- Objetivo é corrigir o défice em Cr cerebral.
- Suplementação oral com creatina monohidratada.
- Verificou-se melhoria a nível do desenvolvimento psicomotor.

### ▣ Défice em GALT

- Objetivo é corrigir o défice em Cr cerebral e diminuir os níveis de GAA.
- Suplementação oral com creatina monohidratada e ornitina e uma dieta restrita em arginina.
- GAA é um substrato neurotóxico e epileptogénico – o início do tratamento numa fase pré-sintomática pode levar ao restauro da creatina cerebral, a uma evolução clínica favorável e prevenir as sequelas neurológicas.

## Tratamento

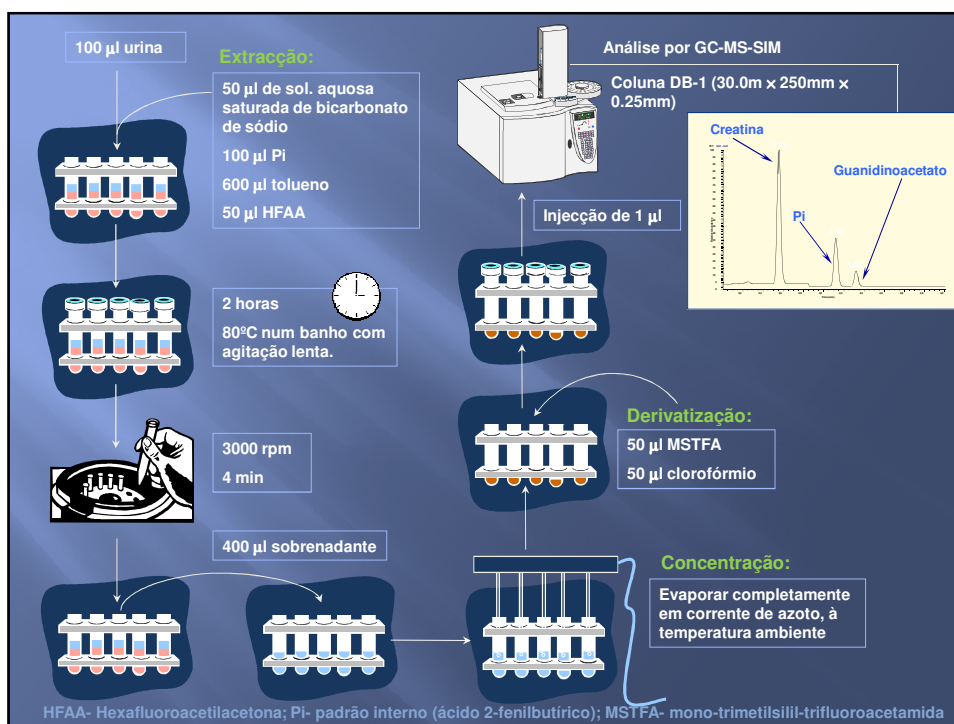
### ▣ Défice em SLC6A8

- Ainda não existe nenhum tratamento eficaz para os doentes do sexo masculino.
- Suplementação oral com doses elevadas de creatina monohidratada, não demonstrou grandes melhorias a nível do restauro da creatina cerebral.
- As familiares portadoras sintomáticas (com atraso intelectual) podem beneficiar da terapêutica com creatina e seus precursores (arginina e glicina).



## Pacientes e Métodos

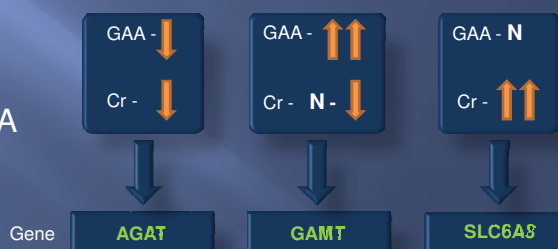
- Estudamos **6,761 urinas** de indivíduos Portugueses com atraso mental, atraso de linguagem e perturbações de espectro autista para despistar os défices do metabolismo da creatina.
- Iniciamos o estudo através do doseamento do guanidinoacetato e creatina urinário por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS-SIM).



## Pacientes e Métodos

- ▣ Todos os casos com alterações bioquímicas foram posteriormente confirmados por estudos moleculares.

- Extração DNA
- PCR
- Sequenciação DNA



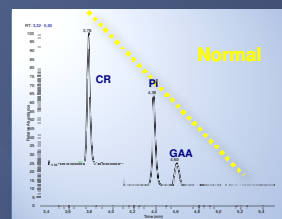
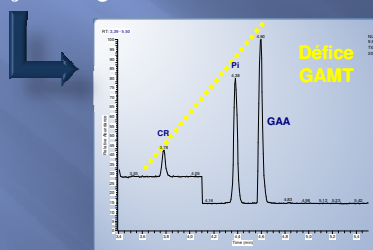
Análise molecular dos casos mais antigos foi efetuada em colaboração com Department of Clinical Chemistry, Metabolic Unit, VU Medical Center, Netherlands.

➔ Já se encontra disponível na nossa Unidade o diagnóstico molecular dos défices em GAMT e SLC6A8.

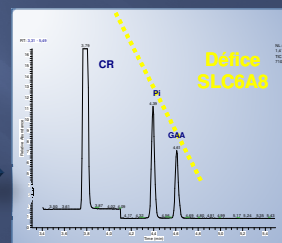
## Resultados Bioquímicos

**6,761 urinas analisadas**

➔ **8 casos** - aumento da excreção do guanidinoacetato



➔ **15 casos** - aumento da razão creatina/creatinina



➔ Até ao momento ainda não foi diagnosticado nenhum caso de défice em AGAT, no nosso laboratório.

## Resultados - déficit em GAMT

- ▣ Todos os doentes apresentaram a mesma mutação (**c.59G>C, exon1; p.Trp20Ser**).
- ▣ Efeito fundador na nossa população (Almeida L *et al*, 2008).

Patient	Age (years)	Gender	GAA (umol/mmol crn)	Cr (umol/L)	Mutation analysis	Protein
GAMT-1	16	Male	827 ↑	456	c.59G>C	p.Trp20Ser
GAMT-2	20	Male	406 ↑	366	c.59G>C	p.Trp20Ser
GAMT-3	21	Male	423 ↑	337	c.59G>C	p.Trp20Ser
GAMT-4	19	Male	546 ↑	462	c.59G>C	p.Trp20Ser
GAMT-5	15	Male	1230 ↑	78	c.59G>C	p.Trp20Ser
GAMT-6	9	Female	1064 ↑	110	c.59G>C	p.Trp20Ser
GAMT-7	12	Female	911 ↑	129	c.59G>C/c.521G>A	p.Trp20Ser.Trp174X
GAMT-8	6	Male	1480 ↑	206	c.59G>C	p.Trp20Ser

Controls: 5-11y: GAA: 18-130; Cr: 146-8560; >12y: GAA: 18-130; Cr: 142-5952

Patient	Age (years)	Cr (umol/L)	Cr/Crn	Mutation analysis	Protein
SLC6A8-1	4	12 337	5.87	c.1597G>A, intron 11	Splice error
SLC6A8-2	8	19 684	3.45	c.1261G>C, exon 9	p.Gly421Arg
SLC6A8-3	3	4680	4.25	c.1A>G, exon 1	p.Met1?
SLC6A8-4	12	11 889	2.90	c.1169C>T, exon 8	p.Pro390Leu
SLC6A8-5	4	5922	4.93	c.1222_1224delTTC, exon 8	p.Phe408del
SLC6A8-6	2	5371	3.58	c.1432dupG, exão 10	p.Ala478GlyfsX24
SLC6A8-7	2	10 092	2.80	c.884_885delCT, exon 5	p.Pro295ArgfsX169
SLC6A8-8	15	4932	2.24	c.1456C>T, exon 10	p.Gln476X
SLC6A8-9	15	5891	1.84	c.1456C>T, exon 10	p.Gln476X
SLC6A8-10	6	6098	2.26	c.1661C>T, exon 12	p.Pro554Leu
SLC6A8-11	2	20 475	9.31	c.986G>T, exon 6	p.Ser329Ile
SLC6A8-12	5	27 807	7.72	c.321_323delCCT, exon 2	p.Phe107del
SLC6A8-13	4	30 996	6.20	c.1299_1309del, exon 9	p.Pro434LeufsX27
SLC6A8-14	6	4009	2.00	c.355G>T, exon 2	p.Gly119Cys
SLC6A8-15	4	10 590	2.71	No mutation found	-

Controls: <4y: Cr: 140-7910; Cr/Crn: 0.04-1.51; 5-11y: Cr: 146-8560; Cr/Crn:0.04-1.07; >12y: Cr: 142-5952; Cr/Crn: 0.04-0.56

## Conclusão

- ▣ **23 doentes** foram identificados no nosso laboratório (1:294).
- ▣ Provavelmente estes défices estão subdiagnosticados - **Atraso mental de etiologia desconhecida, epilepsia e atraso de linguagem.**
- ▣ Défice em SLC6A8, sendo uma patologia ligada ao X, deve-se considerar em indivíduos do sexo masculino com atraso mental e X-frágil negativo.
- ▣ Os défices de GAMT e AGAT como têm tratamento são potenciais candidatos a serem integradas no painel das doenças rastreadas.






**Obrigada pela vossa atenção**