

# SYNDRÓMY DEFICITU KREATÍNU, ICH BIOMARKERY A POTENCIÁLNY VÝSKYT U DETÍ S PORUCHAMI AUTISTICKÉHO SPEKTRA CREATINE DEFICIENCY SYNDROMES, BIOMARKERS AND POTENTIAL FREQUENCY IN CHILDREN WITH AUTISM SPECTRUM DISORDERS

JURDÁKOVÁ Helena, GÓROVÁ Renáta

*Chemický ústav, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava*

## ABSTRAKT

Syndrómy deficitu kreatínu patria medzi vrodené metabolické poruchy, zahŕňajú poruchy v syntéze a transporte kreatínu a spôsobujú deficit kreatínu v mozgu a tým aj závažné neurologické poruchy. V niektorých prípadoch sú prítomné poruchy autistického spektra, najmä pri deficite kreatínového transportéra. Pre potreby včasnej diagnostiky boli vyvinuté viaceré metódy stanovenia biomarkerov týchto ochorení, kreatínu a kyseliny guanidinooctovej, v biologických matriciach a ich vyšetrenie by malo byť súčasťou diferenciálnej diagnostiky u pacientov s mentálnou retardáciou a/alebo poruchami autistického spektra.

**Kľúčové slová:** Kreatín. GAA. AGAT. GAMT. Deficit kreatínového transportéra

## ABSTRACT

The creatine deficiency syndromes are inborn errors of metabolism and include defects in synthesis and transport of creatine. Creatine deficiency in the brain causes neurological disease and is the characteristic hallmark of all types. In some cases the clinical symptoms include autistic spectrum disorders mainly in creatine transporter deficiency. Several methods for the determination of specific biomarkers of the syndromes, which are creatine and guanidinoacetic acid were developed for early diagnostic purposes in various biological matrices. Their examination should be included in differential diagnostics in patients with mental retardation and/or autistic spectrum disorders.

**Key words:** Creatine. GAA. AGAT. GAMT. Creatine transporter deficiency

## ÚVOD

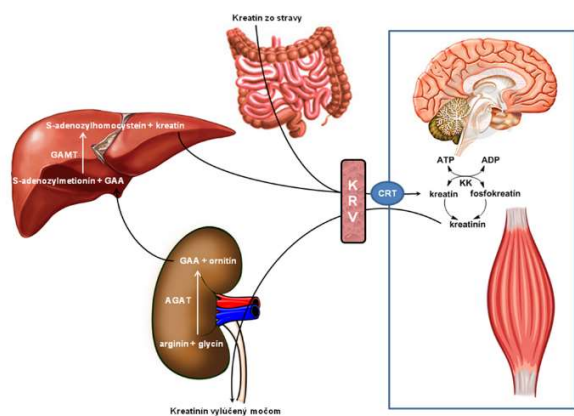
Syndrómy deficitu kreatínu (CDS, Creatine Deficiency Syndromes) patria do skupiny dedičných metabolických ochorení, kedy dochádza k poruche tvorby alebo transportu kreatínu. Kreatín a jeho fosforylovaná forma kreatín fosfát zohrávajú významnú úlohu pri ukladaní a prenose energie vo väčšine tkanív, prevažne však v kostrovom svalstve a mozgu [1]. Do skupiny CDS ochorení patria dve autozomálne recesívne poruchy syntézy kreatínu – deficit enzýmu arginín-glycínamidinotransferázy (AGAT) a guanidinoacetátmetyltransferázy

(GAMT), ako aj X-viazaná porucha deficitu kreatínového transportéra (CTD, Creatine Transporter Deficiency), kódovaného génom SLC6A8. Hlavnými symptómami CDS sú mentálna retardácia, poruchy reči, autistické správanie, hypotónia, epilepsia a znížený obsah kreatínu v mozgu, detegovateľný pomocou magnetickej rezonančnej spektroskopie [1,2].

## Poruchy biosyntézy a transportu kreatínu

Endogénna syntéza kreatínu prebieha v dvoch enzymatických reakciách. V obličkách sa z arginínu a glycínu produkuje kyselina guanidinooctová (GAA). Táto reakcia je katalyzovaná enzýmom AGAT. Následne je GAA po prenose do pečene metylovaná s využitím metionínu a účinkom enzýmu GAMT za vzniku kreatínu. Do mozgu sa kreatín dostáva prostredníctvom špecifického membránového Na<sup>+</sup> dependentného kreatínového transportéra (CRT), ktorý slúži ako prenášač cez hematoencefalickú bariéru (Obr. 1. a 2) [3]. Pacienti s GAMT deficitom vykazujú najzávažnejšie klinické spektrum príznakov, pre AGAT deficit býva typickým odlišovacím znakom myopatia [4]. Podľa Asociácie pre kreatínovú deficienciu (ACD; <https://creatine-info.org/>) sa odhaduje, že nedostatok kreatínového transportéra predstavuje druhú najčastejšiu príčinu X-viazaného mentálneho postihnutia, stále je však poddiagnostikovaný [1,5]. Presná prevalencia CTD nie je známa, napriek tomu niektoré zdroje odhadujú prevalenciu 0,2-3,5% medzi chlapcami s mentálnym postihnutím alebo poruchami autistického spektra (ASD, Autism Spectrum Disorders) [5]. Viacerí autori študovali prevalenciu CTD u pacientov s mentálnou retardáciou alebo ASD, pričom výsledky preukázali veľmi nízku prevalenciu CTD u detí s autistickým spektrom správania v porovnaní s pacientami s mentálnou retardáciou [5-9]. Avšak, pri skúmaní kohorty 20 pacientov s CTD malo 6 z nich poruchu autistického spektra [10].

Odporúča sa preto zahrnúť stanovenie charakteristických markerov CTD, prípadne deficitu AGAT a GAMT do selektívneho/novorodeneckého skríningu pre vrodené metabolické poruchy [4,8,9,11, 12], najmä v skupine detí s ASD.

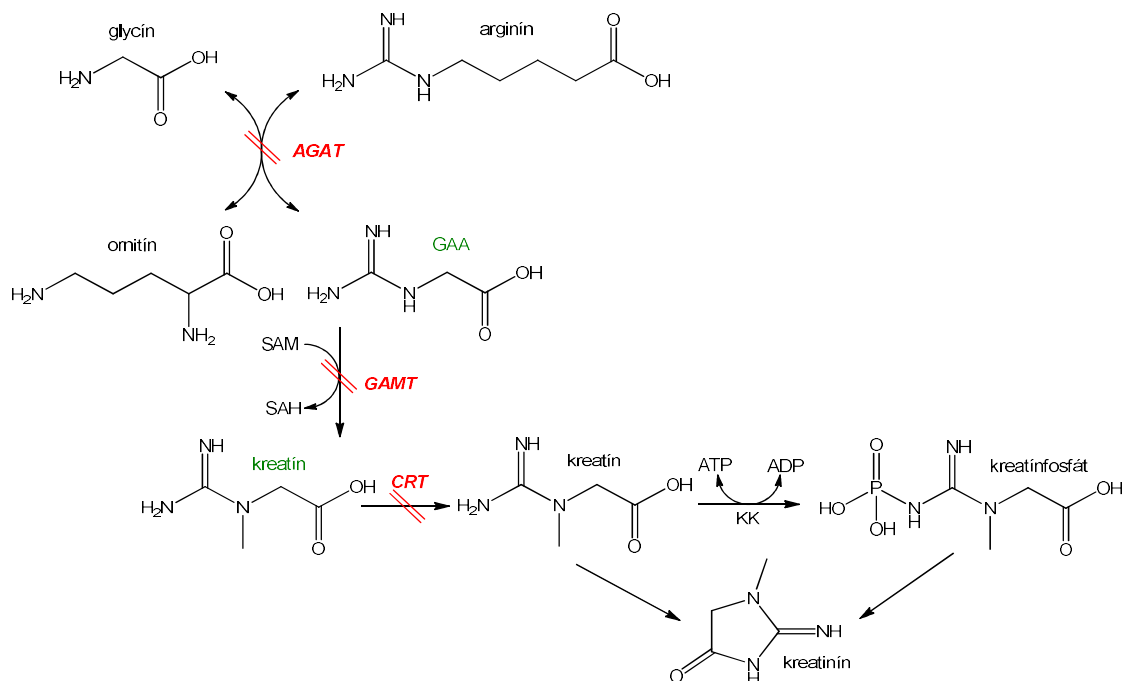


**Obrázok 1** Hlavné cesty metabolizmu kreatínu v organizme. Legenda: ATP – adenzíntrifosfát, ADP – adenzíndifosfát, KK – kreatínkináza.

### Biomarkery

Charakteristickým diagnostickým markerom AGAT deficitu je znížená koncentrácia GAA

v plazme, moči a cerebrospinálnej tekutine, zatiaľ čo pre GAMT deficit je charakteristická jej vysoká koncentrácia. Ako diagnostický marker pre CTD slúži zvýšený pomer kreatín/kreatinín v moči (Obr. 2). Plazmový kreatín je v prípade deficitu AGAT a GAMT deficitu znížený, pri CTD normálny [2,4]. S ohľadom na diagnostické potreby boli vyvinuté viaceré analytické metódy na stanovenie nízkych koncentrácií GAA a/alebo kreatínu v biologických vzorkách, ako napríklad plynová chromatografia s hmotnostnospektrometrickou detekciou (GC-MS) [13-16], neskôr najmä kvapalinová chromatografia s tandemovou hmotnostnou spektrometriou (LC-MS/MS) [16-19], prípadne MS/MS s priamym nástrekom vzorky [20]. Nevýhodou pri stanovení obsahu kreatínu v moči je jeho nestabilita a narastajúca koncentrácia spôsobená bakteriálnou kontamináciou. V prípade, že sa stanovenie neuskutoční ihneď po odobratí, je nevyhnutné vzorku ihneď hlboko zamraziť a znížiť počet rozmrazení na minimum [14,21]. Auray-Blais a kol. (2014) publikovali metódu stanovenia CDS markerov vo vzorkách moču odobratých na filtračný papier v rámci skríninového programu v Quebecu. Výhodou je neinvazivnosť, ľahké vzorkovanie, zníženie nákladov na prepravu a skladovanie vzorky [22].



**Obrázok 2** Schéma metabolickej dráhy kreatínu s vyznačenými miestami poruchy metabolizmu a transportu kreatínu (červeným) a charakteristickými biomarkermi (zeleným). Legenda: SAM – S-adenozylmetionín, SAH – S-adenozylhomocysteín, ATP – adenzíntrifosfát, ADP – adenzíndifosfát, KK – kreatínkináza.

## Liečba

Stratégia liečby spočíva v orálnej suplementácii vysokých dávok monohydrátu kreatínu vo všetkých troch prípadoch. V prípade GAMT deficitu je nutné znížiť tvorbu neurotoxického medziproduktu GAA a to orálnou suplementáciou vysokých dávok ornitínu a nízkoproteínovou diétou vzhľadom na restrikciiu arginínu [1,2,4]. Terapia benzoátom sodným tiež prispieva k zníženiu tvorby GAA prostredníctvom naviazania glycinu, jedného zo substrátov pre tvorbu GAA [2]. V prípade CTD sa tiež pristupuje k suplementácii arginínom a glycinom, substrátov pre intracerebrálnu syntézu kreatínu [2,4]. Pre úspešnú liečbu AGAT a GAMT deficitu je nevyhnutná včasná diagnostika a nasadenie liečby čím skôr po narodení, čím sa dá predísť mentálnej retardácii [2,23,24]. Odpoveď na liečbu CTD je slabšia, skôr symptomatická (zlepšenie hypotónie a záchvatov), mentálna retardácia je však v tomto prípade nezvratná [2,23-25]. Správna diagnóza a včasná intervencia sú rozhodujúce pre stanovenie potrebnej liečby na zlepšenie kvality a dĺžky života pacienta s CDS [4,12].

## ZÁVER

Zavedenie stanovenia kreatínu a kyseliny guanidinoacetovej ako charakteristických biomarkerov syndrómov deficitu kreatínu do klinickej praxe predstavuje významný prínos pre určenie správnej diagnózy, včasné nasadenie potrebnej liečby a zlepšenie kvality života pacientov s CDS. Ich vyšetrenie by malo byť riadnou súčasťou diferenciálnej diagnostiky u pacientov s mentálnou retardáciou a/alebo poruchami autistického spektra.

## Pod'akovanie

Tento článok vznikol vďaka podpore v rámci OP Výskum a vývoj pre dopytovo-orientovaný projekt: Univerzitný vedecký park Univerzity Komenského v Bratislave, ITMS 26240220086 spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja, projekt: Vybudovanie kompetenčného centra pre výskum a vývoj v oblasti molekulárnej medicíny, ITMS 26240220071 a podpore Agentúry pre výskum a vývoj, APVV-0840-11.

## ZOZNAM BIBLIOGRAFICKÝCH ODKAZOV

- [1] NASRALLAH F., FEKI M., KAABACHI N. Creatine and creatine deficiency syndromes: biochemical and clinical aspects. *Pediatr Neurol.* 2010; 42 (3): 163-171.
- [2] LONGO N., ARDON O., VANZO R., et al. Disorders of creatine transport and metabolism. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2011; 157C (1): 72-78.
- [3] WYSS M., KADDURAH-DAOUK R. Creatine and creatinine metabolism. *Physiol Rev.* 2000; 80 (3): 1107-1213.
- [4] STOCKLER-IPSIROGLU S., VAN KARNEBEEK C.D. Cerebral creatine deficiencies: a group of treatable intellectual developmental disorders. *Semin Neurol.* 2014; 34 (3): 350-356.
- [5] THURM A., HIMELSTEIN D., D'SOUZA P., et al. Transporter Deficiency: Screening of Males with Neurodevelopmental Disorders and Neurocognitive Characterization of a Case. *J Dev Behav Pediatr.* 2016; 37 (4): 322-326.
- [6] CAMERON J.M., LEVANDOVSKIY V., ROBERTS W., et al. Variability of Creatine Metabolism Genes in Children with Autism Spectrum Disorder. *Int J Mol Sci.* 2017; 18 (8): pii: E1665.
- [7] SCHULZE A., BAUMAN M., TSAI A.C., et al. Prevalence of Creatine Deficiency Syndromes in Children With Nonsyndromic Autism. *Pediatrics.* 2016; 137 (1).
- [8] MERCIMEK-MAHMUTOGLU S., MUEHL A., SALOMONS G.S., et al. Screening for X-linked creatine transporter (SLC6A8) deficiency via simultaneous determination of urinary creatine to creatinine ratio by tandem mass-spectrometry. *Mol Genet Metab.* 2009; 96 (4): 273-275.
- [9] ARIAS A., CORBELLA M., FONS C., et al. Creatine transporter deficiency: prevalence among patients with mental retardation and pitfalls in metabolite screening. *Clin Biochem.* 2007; 40 (16-17): 1328-1331.
- [10] MILLER J.S., THOMAS R.P., BRUCHEY A., et al. Creatine Transporter Deficiency: A Rare Neurodevelopmental Disorder with ASD Symptomatology. 2017. Abstract Number:25807. <https://www.centerforautismresearch.org/creatine-transporter-deficiency-rare-neurodevelopmental-disorder-asd-symptomatology>
- [11] WANG L., ANGLELY M.T., SORICH M.J., et al. Is there a role for routinely screening children with autism spectrum disorder for creatine deficiency syndrome? *Autism Res.* 2010; 3 (5): 268-272.
- [12] DUNBAR M., JAGGUMANTRI S., SARGENT M., et al. Treatment of X-linked creatine transporter (SLC6A8) deficiency: systematic review of the literature and three new cases. *Mol Genet Metab.* 2014; 112 (4): 259-274.

- [13] CARTIGNY B., AZAROUAL N., MILLEHAMARD L., et al. <sup>1</sup>H NMR urine analysis as an effective tool to detect creatine supplementation. *J Anal Toxicol.* 2002; 26: 355-359.
- [14] PRIETO J.A., ANDRADE F., MARTÍN S., et al. Determination of creatine and guanidinoacetate by GC-MS: study of their stability in urine at different temperatures. *Clin Biochem.* 2009; 42 (1-2): 125-128.
- [15] NASRALLAH F., FEKI M., BRIAND G., et al. GC/MS determination of guanidinoacetate and creatine in urine: A routine method for creatine deficiency syndrome diagnosis. *Clin Biochem.* 2010; 43 (16-17): 1356-1361.
- [16] YOUNG S., STRUYS E., WOOD T. Quantification of creatine and guanidinoacetate using GC-MS and LC-MS/MS for the detection of cerebral creatine deficiency syndromes. *Curr Protoc Hum Genet.* 2007; Chapter 17: Unit 17.3.
- [17] JOVANOVIĆ P., VRANEŠ M., SAKAČ M., et al. Hydrophilic interaction chromatography coupled to tandem mass spectrometry as a method for simultaneous determination of guanidinoacetate and creatine. *Anal Chim Acta.* 2018; 1028: 96-103.
- [18] BOENZI S., RIZZO C., DI CIOMMO V.M., et al. Simultaneous determination of creatine and guanidinoacetate in plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). *J Pharm Biomed Anal.* 2011; 56 (4): 792-798.
- [19] COGNAT S., CHEILLAN D., PIRAUD M., et al. Determination of guanidinoacetate and creatine in urine and plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Clin Chem.* 2004; 50 (8): 1459-1461.
- [20] CARDUCCI C., SANTAGATA S., LEUZZI V., et al. Quantitative determination of guanidinoacetate and creatine in dried blood spot by flow injection analysis-electrospray tandem mass spectrometry. *Clin Chim Acta.* 2006; 364 (1-2): 180-187.
- [21] SAUDE E.J., SYKES B.D. Urine stability for metabolomic studies: effects of preparation and storage. *Metabolomics.* 2007; 3 (1): 19-27.
- [22] AURAY-BLAIS C., MARANDA B., LAVOIE P. High-throughput tandem mass spectrometry multiplex analysis for newborn urinary screening of creatine synthesis and transport disorders, Triple H syndrome and OTC deficiency. *Clin Chim Acta.* 2014; 436: 249-255.
- [23] SCHULZE A. Creatine deficiency syndromes. *Mol Cell Biochem.* 2003; 244 (1-2): 143-150.
- [24] LEUZZI V. Inborn errors of creatine metabolism and epilepsy: clinical features, diagnosis, and treatment. *J Child Neurol.* 2002; 17 Suppl 3: 3S89-97; discussion 3S97.
- [25] FONS C., SEMPERE A., ARIAS A., et al. Arginine supplementation in four patients with X-linked creatine transporter defect. *J Inheret Metab Dis.* 2008; 31 (6): 724-728.