

# Utilidad del análisis del líquido cefalorraquídeo para el estudio de las deficiencias del metabolismo de neurotransmisores y pterinas y del transporte de glucosa y folato a través de la barrera hematoencefálica



Aida Ormazabal<sup>a</sup>, Àngels García Cazorla<sup>a</sup>, Belén Pérez Dueñas<sup>a</sup>, Mercé Pineda<sup>a</sup>, Ángeles Ruiz<sup>b</sup>, Eduardo López Laso<sup>c</sup>, Maite García Silva<sup>d</sup>, Inés Carilho<sup>e</sup>, Clara Barbot<sup>e</sup>, Bru Cormand<sup>f</sup>, Marta Ribases<sup>f</sup>, Lisbeth Moller<sup>g</sup>, Emilio Fernández Álvarez<sup>a</sup>, Jaume Campistol<sup>a</sup> y Rafael Artuch<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Hospital Sant Joan de Déu. Esplugues. Barcelona.

<sup>b</sup>Hospital Son Dureta. Palma de Mallorca.

<sup>c</sup>Hospital Reina Sofía. Córdoba.

<sup>d</sup>Hospital 12 de Octubre. Madrid.

<sup>e</sup>Hospital Maria Pia. Porto. Portugal.

<sup>f</sup>Facultat de Biologia. Universitat de Barcelona. Barcelona. España.

<sup>g</sup>JFK institute. Glostrup. Dinamarca.

**FUNDAMENTO Y OBJETIVO:** En la última década se ha descrito diferentes errores congénitos del metabolismo de los neurotransmisores (NT), en especial de las vías dopaminérgica y serotoninérgica y de las pterinas. También se ha descrito defectos primarios en el transporte de glucosa y 5-metiltetrahidrofolato (5-MTHF) a través de la barrera hematoencefálica, todos ellos enfermedades raras para cuyo diagnóstico es necesario el estudio en líquido cefalorraquídeo (LCR). Nuestro objetivo ha sido evaluar los resultados de la aplicación de un protocolo de análisis de LCR en España y Portugal durante 3 años en pacientes pediátricos con trastornos neurológicos de origen desconocido.

**PACIENTES Y MÉTODO:** Se estudió a 127 individuos control y 283 pacientes con trastornos neurológicos de origen desconocido. El análisis de NT se realizó mediante HPLC con detección electroquímica y el análisis de pterinas y 5-MTHF, mediante HPLC con detección de fluorescencia.

**RESULTADOS:** Se ha diagnosticado 3 deficiencias de tirosina hidroxilasa en una misma familia, 2 casos de distonía sensible a L-dopa, 2 familias con deficiencia de guanosinatrifosfato-ciclohidrolasa dominante (14 casos), 2 deficiencias del transportador de glucosa y 43 deficiencias de folato en LCR.

**CONCLUSIONES:** Este estudio ha permitido el diagnóstico de nuevos pacientes y, lo que es más importante, el establecimiento en todos ellos de un tratamiento farmacológico o nutricional. Las deficiencias de 5-MTHF han sido las más frecuentes y se las ha detectado en diferentes grupos de pacientes.

**Palabras clave:** Neurotransmisores. Dopamina. Serotonina. Pterinas. Líquido cefalorraquídeo. Transporte de glucosa. Transporte de folato. Barrera hematoencefálica.

Usefulness of analysis of cerebrospinal fluid for the diagnosis of neurotransmitters and pterin defects and glucose and folate transport deficiencies across blood brain barrier

**BACKGROUND AND OBJECTIVE:** In the last few years, it has been described inborn errors of neurotransmitter and pterin metabolism and defects in folate and glucose transport across blood brain barrier. All these defects are classified as rare diseases and needs cerebrospinal fluid (CSF) sample analysis for diagnosis. Our aim was to evaluate the results of the application of a CSF analysis protocol in a pediatric population from Spain and Portugal presenting with neurological disorders of unknown origin.

**PATIENTS AND METHOD:** We studied CSF samples from and 283 patients with neurological disorders of unknown origin and 127 controls. Neurotransmitters were analysed by HPLC with electrochemical detection, and pterins and 5-methyltetrahydrofolate were determined by HPLC with fluorescence detection.

**RESULTS:** We diagnosed 3 patients with tyrosine hydroxylase deficiency, 2 with dopa responsive dystonia, 14 with GTP-ciclohidrolasa deficiency, 2 with glucose transport deficiency and 43 with cerebral folate deficiency.

**CONCLUSIONS:** This study allowed us to diagnose new patients, and more importantly, the establishment in all of them of a pharmacological or nutritional treatment. The most frequent defect found was CSF 5-methyltetrahydrofolate deficiency, which was present in different groups of patients.

**Key words:** Neurotransmitters. Dopamin. Serotonine. Pterins. Cerebrospinal fluid. Glucose transport. Folate transport. Blood brain barrier.

Este trabajo ha sido posible gracias a las becas FIS REDEMETH (G03/054), INERGEN (C03/05) y FIS-PI051318.

Correspondencia: Dr. R. Artuch.  
Departamento de Bioquímica. Hospital Sant Joan de Déu.  
Pg. Sant Joan de Déu, 2. 08950 Esplugues. Barcelona. España.  
Correo electrónico: rartuch@hsjdbcn.org

Recibido el 23-1-2006; aceptado para su publicación el 4-4-2006.

En la última década se ha descrito diferentes errores congénitos del metabolismo (ECM) de los neurotransmisores (NT), en especial de las vías dopaminérgica y serotoninérgica<sup>1</sup> y de las pterinas. La biosíntesis de estos NT parte de los aminoácidos tirosina (vía dopaminérgica) y triptófano (vía serotoninérgica) en reacciones catalizadas por diferentes enzimas<sup>2</sup> (fig. 1). Los ECM de los NT asociados a trastornos neurológicos en el ámbito pediátrico hasta el momento son: deficiencia de tirosina hidroxilasa (TH; EC 1.14.16.2), de descarboxilasa de aminoácidos aromáticos (AADC; EC 4.1.1.28) y de dopamina betahidroxilasa (DBH; EC 1.14.17.1)<sup>3</sup>. La deficiencia de TH cursa con una deficiencia de dopamina que tiene 2 formas de presentación<sup>4</sup>. Las formas precoces (los síntomas se inician durante el primer año de vida, normalmente los primeros meses) se comportan como encefalopatías graves dominadas clínicamente por un síndrome rígido-acinético, al que se asocian retraso psicomotor, movimientos oculares anormales (crisis oculogiras, ptosis palpebral) y diferentes tipos de trastornos del movimiento, de los que la distonía y el temblor son los más frecuentes. Estos rasgos clínicos pueden variar a lo largo del día y mejoran en la mayoría de los casos con la administración de dopa. Sin tratamiento, tienen un carácter progresivo. Las formas de presentación tardía de TH se manifiestan como distonías sensibles a dopa, con menor o nula afectación cognitiva, y semejan así la enfermedad de Segawa. El déficit de AADC presenta, además, una deficiencia de serotonina y clínicamente es una entidad más grave, incluso de inicio más precoz, en la cual aparecen signos como la hipersalivación o la inestabilidad térmica, que son más propios de los déficit de serotonina<sup>4</sup>. La respuesta al tratamiento sustitutivo con dopa y 5-hidroxitriptófano (5-HTP) suele ser escasa y la mortalidad, alta.

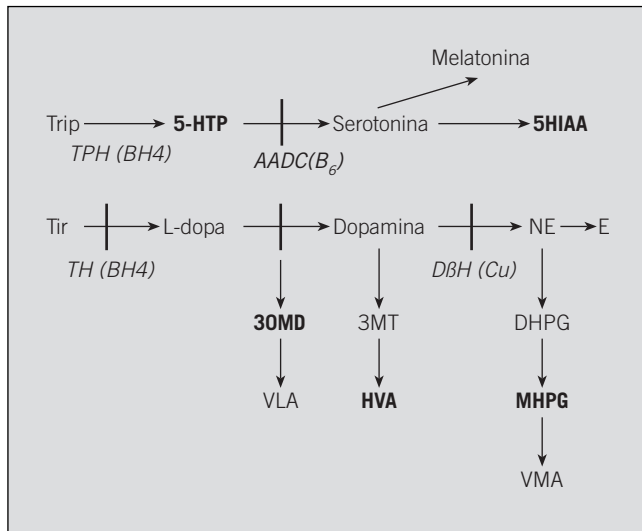


Fig. 1. Ruta metabólica de los neurotransmisores. Las enzimas implicadas en estas enfermedades aparecen en cursiva con su coenzima entre paréntesis. Los metabolitos intermedios que se cuantifican para el diagnóstico aparecen en negrita. La deficiencia de TH cursa con: disminución de HVA y MHPG, y 5-HIAA y 5-HTP normales. La deficiencia de AADC cursa con: disminución de 5-HIAA, HVA y MHPG, y aumento de 5-HTP y 3-OMD. La deficiencia de DBH cursa con: aumento de HVA, disminución de MHPG, y 5-HIAA y 5-HTP normales. 3-OMD: 3-ortometildopa; 5-HTP: 5-hidroxitriptófano; MHPG: 4-hidroxi-3-metoxifenilglicol; 5-HIAA: ácido 5-hidroxiindolacético; HVA: ácido homovanílico; TH: tirosina hidroxilasa; AADC: descarboxilasa de aminoácidos aromáticos; DBH: dopamina betahidroxilasa; BH4: tetrahidrobiopterina; B6: vitamina B6; Cu: cobre.

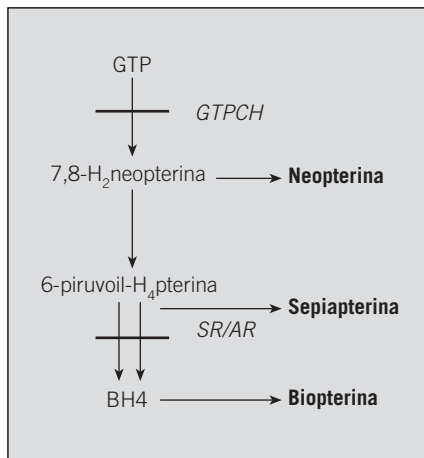


Fig. 2. Metabolismo de las pterinas. Las enzimas implicadas en estas enfermedades aparecen en cursiva y los metabolitos intermedios que se cuantifican para el diagnóstico, en negrita. La deficiencia de GTP-CH1 cursa con: disminución de NP, BP y HVA, y 5-HIAA reducida o normal. La deficiencia de SR cursa con: aumento de BP y SP, disminución de HVA y 5-HIAA, y NP normal. GTP-CH1: guanosinatrilfosfato ciclohidrolasa; SR: sepiapterina reductasa.

Algunas de las enzimas implicadas en la síntesis de los NT son dependientes de la presencia de diversas coenzimas, y la tetrahidrobiopterina (BH4) es fundamental para el inicio de ambas rutas metabólicas<sup>3</sup>. La BH4 es el cofactor natural no sólo de las enzimas tirosina hidroxilasa (síntesis de L-dopa, precursor de dopamina) y triptófano hidroxilasa (síntesis de 5-HTP, precursor de serotonina), sino también de la fenilalanina hidroxilasa, óxido nítrico sintetasa y gliceril-éter monoxygenasa<sup>2</sup>. Por tanto, la deficiencia de BH4 causaría un descenso de la concentración de dopamina y serotonina, y además podría ser causa de otras enfermedades metabólicas, como la hiperfenilalaninemia<sup>3</sup>. De las deficiencias del metabolismo de las pterinas, hay 2 que cursan

sin hiperfenilalaninemia y, por tanto, no se detectan en el diagnóstico precoz neonatal y que serán objeto de este estudio: deficiencia de guanosinatrilfosfato ciclohidrolasa I (GTP-CH1; EC 3.5.4.16), con herencia autosómica dominante, y de sepiapterina reductasa (SR; EC 1.1.1.153), de herencia autosómica recesiva (fig. 2)<sup>3,5,6</sup>. La primera, también denominada enfermedad de Segawa, suele presentarse en forma de distonía, normalmente focal y de inicio en las extremidades inferiores durante la primera década de la vida<sup>4</sup>. Posteriormente, si no se trata, la enfermedad evoluciona y aparecen distonías generalizadas. No suele haber déficit cognitivo. La respuesta a la dopa es excelente, y los síntomas se normalizan por completo. La deficiencia de SR cursa con un cuadro neurológico complejo, equiparable a las formas precoces de déficit de TH, al cual se asocian signos piramidales y marcado retraso psicomotor, con carácter progresivo<sup>4</sup>. El tratamiento sustitutivo puede mejorar notablemente los síntomas.

También se ha descrito defectos primarios en el transporte de glucosa y 5-metil-tetrahidrofolato (5-MTHF) a través de la barrera hematoencefálica. Bioquímicamente, estos defectos se caracterizan por presentar concentraciones plasmáticas normales y un déficit en líquido cefalorraquídeo (LCR) de glucosa o 5-MTHF. Por tanto, la cuantificación de la relación glucosa o folato en LCR respecto al plasma es el marcador diagnóstico principal para estas enfermedades<sup>7,8</sup>.

La deficiencia de glucosa cerebral está causada por un defecto en el transportador GLUT-1 que causa afección tanto de la función como del desarrollo cerebral. Clínicamente, estos pacientes cursan con convulsiones rebeldes al tratamiento, retraso del desarrollo, hipotonía, distonía y ataxia, y todos los síntomas se agravan en situación de ayuno<sup>8,9</sup>. Hasta el mo-

mento, el único tratamiento para esta enfermedad es la dieta cetogénica (rica en grasas y pobre en hidratos de carbono)<sup>8</sup>. La deficiencia de folato cerebral (DFC) está causada, en un alto porcentaje de los pacientes, por la presencia de anticuerpos antirreceptor de folato de alta afinidad del plexo coroideo<sup>10</sup>. Clínicamente estos pacientes presentan irritabilidad, insomnio, retardo psicomotor, ataxia, discinesia y epilepsia, y el tratamiento con ácido fólico mejora mucho los síntomas<sup>7</sup>. También se ha descrito en otras enfermedades de forma secundaria, como en el síndrome de Rett, Aicardi-Goutieres y síndrome de Kearns-Sayre (KSS)<sup>7,11-13</sup>.

No hay todavía datos fiables sobre la prevalencia de todas estas enfermedades, aunque los estudios preliminares indican que son enfermedades raras, con escaso número de pacientes diagnosticados en todo el mundo. No obstante, han sido entidades infradiagnosticadas hasta el momento, especialmente por una elección inadecuada de la muestra a estudiar. A diferencia de otros ECM, los estudios bioquímicos en suero y orina son mayoritariamente normales en los defectos mencionados anteriormente. Sin embargo, el análisis bioquímico en LCR es lo que permite diagnosticar estas enfermedades y otras deficiencias que pueden aparecer de forma secundaria. Bioquímicamente, todas estas entidades cursan con un perfil de metabolitos característico (figs. 1 y 2)<sup>14,15</sup>.

El objetivo del presente trabajo ha sido evaluar los resultados de la aplicación de un protocolo de análisis de LCR en España y Portugal durante 3 años para el diagnóstico de deficiencias primarias del metabolismo de los NT y pterinas y de los defectos en el transporte de glucosa y folato a través de la barrera hematoencefálica, en pacientes pediátricos con trastornos neurológicos de origen desconocido.

TABLA 1

**Protocolo de extracción de líquido cefalorraquídeo (LCR) para el diagnóstico de enfermedades metabólicas de base genética que sólo se puede diagnosticar por estudio bioquímico en LCR**

	Volumen de LCR	Análisis	Enfermedad a diagnosticar	Observaciones
Tubo 1	5 gotas	Citoquímica	Deficiencia del transporte de glucosa	
Tubo 2	10 gotas	NT	Deficiencia de TH, AADC y DβH.	
Tubo 3	10 gotas	Pterinas, 5-MTHF	Deficiencia de GTP-CH1, SR y folato cerebral	Tubo tapado de la luz
Tubo 4	10 gotas	Aminoácidos	Deficiencia de serina e hiperglicinemia no cetósica	
Tubo 5	10 gotas	Lactato, piruvato	Deficiencia del transporte de glucosa	Tubo con ácido perclórico

NT: neurotransmisores; 5-MTHF: 5-metilтетраhidроfolato; TH: tirosina hidroxilasa; AADC: descarboxilasa de aminoácidos aromáticos; DβH: dopamina beta-hidroxilasa; GTP-CH1: GTP-ciclohidrolasa-1 dominante; SR: sepiapterina reductasa.  
El orden de recogida de las muestras es de gran importancia debido a la existencia de un gradiente rostrocaudal en los metabolitos de los neurotransmisores y las pterinas. La determinación simultánea de glucosa y folato en plasma permite estudiar defectos del transporte de esas moléculas.

TABLA 2

**Resultados bioquímicos y genéticos de neurotransmisores y pterinas**

	3-OMD, nmol/l	MHPG, nmol/l	5-HTP, nmol/l	5HIAA, nmol/l	HVA, nmol/l	NP, nmol/l	BP, nmol/l	Mutaciones
Caso 1 TH, 4 años <sup>a</sup>	1,7 (3-64)	1 (22-54)	4,6 (4-23)	177 (106-316)	15 (304-658)	14 (7-55)	31 (10-52)	Arg28Trp, Thr99Met
Caso 2 DSD, 2 años	18 (4-50)	17 (20-80)	6 (2-15)	176 (170-490)	74 (344-906)	9 (8-43)	26 (8-54)	En estudio (gen TH)
Caso 3 DSD, 2 años	38 (4-50)	50 (20-80)	7 (2-15)	203 (170-490)	204 (344-906)	18 (8-43)	17 (8-54)	En estudio (gen TH)
Caso 4 GTP-CH1, 5 años	45 (3-64)	38 (22-54)	2,1 (4-23)	144 (106-316)	194 (304-658)	3,8 (7-55)	5,7 (10-52)	En estudio (gen GTP-CH)
Caso 5 <sup>b</sup> GTP-CH1, 1 año	25 (4-50)	25 (20-80)	3,0 (2-15)	236 (170-490)	268 (344-906)	2 (8-43)	6 (8-54)	Q89X (exón 1)

3-OMD: 3-ortometildopa; MHPG: 4-hidroxi-3-metoxifenilglicol; 5-HTP: 5-hidroxitriptófano; 5HIAA: ácido 5-hidroxiindolacético; HVA: ácido homovanílico; NP: neopterina; BP: bipterina.  
Sujetos: 1 paciente con deficiencia de tirosina hidroxilasa (TH), 2 con distonía sensible a L-dopa (DSD) y 2 con deficiencia de GTP-ciclohidrolasa 1 dominante (GTP-CH1). Los valores entre paréntesis son los de referencia.

<sup>a</sup>En esa familia se diagnosticó 2 casos más de forma prenatal.

<sup>b</sup>En esa familia se diagnosticó 13 nuevos casos mediante sobrecarga oral de fenilalanina.

**Pacientes y método**

*Pacientes*

Se estudió en el Laboratorio de Bioquímica del Hospital Sant Joan de Déu (Esplugues, Barcelona, España) las muestras de LCR de 283 pacientes (intervalo de edad, 1 día-19 años; media, 4,4 años) con trastornos neurológicos de origen desconocido (principalmente encefalopatías epilépticas graves y trastornos del movimiento) provenientes de España y Portugal. Criterios de inclusión: perfil neurológico compatible con los ECM comentados anteriormente y estudios bioquímicos para el diagnóstico de ECM en sangre y orina normales.

*Controles*

Se estudió a 127 individuos control (intervalo de edad, 11 días-16 años; media, 3,8 años) que fueron sometidos a una punción lumbar de urgencia para el diagnóstico de diversas enfermedades (principalmente, meningitis bacteriana o viral). Los criterios de exclusión aplicados a este grupo fueron: sospecha clínica o bioquímica de ECM de los NT o pterinas, tratamientos neurofarmacológicos, algún trastorno neurológico (morfológico y/o funcional) y confirmación del diagnóstico de meningitis.

*Método*

Las muestras de LCR se recogieron entre las 8.00 y las 10.00 h de la mañana siguiendo un protocolo de extracción previamente descrito<sup>16</sup> (tabla 1) y se congelaron rápidamente a -70 °C hasta el momento del análisis. En caso de punción hemática, se centrifugaron las muestras para separar el sobrenadante antes de congelarlo. El estudio de los pacientes y los controles se realizó de acuerdo con la declaración de Helsinki de 1964 y revisada en 2000. El Comité de Ética del Hospital Sant Joan de Déu aprobó el estudio.

El análisis de los metabolitos de los NT dopamina y serotonina en LCR (3-ortometildopa [3-OMD], 5-HTP, 4-hidroxi-3-metoxifenilglicol [MHPG], ácido 5-hidroxiindolacético [5-HIAA] y ácido homovanílico [HVA]) se realizó mediante HPLC con par iónico y detección electroquímica siguiendo un método previamente descrito<sup>16</sup>. Los análisis de pterinas (neopterina [NP] y bipterina [BP]), de 5-MTHF y sepiapterina en LCR se realizaron mediante HPLC con detección de fluorescencia basándose en métodos previamente descritos<sup>16-18</sup>. El análisis de glucosa en plasma y LCR se realizó mediante técnicas espectrométricas automati-

zadas (Architect c8000 system, Abbott Laboratories, Estados Unidos). La cuantificación de folato en plasma se realizó mediante automatización de inmunoanálisis con quimioluminiscencia (ADVIA Centaur, Bayer, Tarrytown, EE.UU.). Con la cuantificación de estos metabolitos es posible diagnosticar todas las enfermedades anteriormente comentadas.

**Resultados**

*Alteraciones primarias de los NT*

Se ha diagnosticado 3 casos de deficiencia de TH con 2 mutaciones nuevas (Arg28Trp y Thr99Met) dentro de una misma familia, en la que tuvo lugar el primer diagnóstico prenatal de esta enfermedad<sup>19</sup>. Recientemente se ha detectado 2 nuevos casos de distonía sensible a L-dopa con alteraciones clínicas y bioquímicas compatibles con un déficit de TH, pendientes de la confirmación genética (tabla 2). No se ha diagnosticado a ningún paciente con deficiencia de AADC ni DβH.

*Alteraciones primarias de pterinas*

Se ha diagnosticado 2 familias con deficiencia de GTP-CH1 dominante, una de ellas con 13 miembros afectados (todos ellos presentaron la mutación Q89X), y la otra familia con un solo miembro afectado; 2 de los 14 pacientes fueron diagnosticados por el estudio de pterinas y NT en LCR (tabla 2), mientras que los 12 restantes fueron diagnosticados mediante sobrecarga oral de fenilalanina, y presentaban un perfil aumentado de la relación fenilalanina/tirosina 2 y 4 h después de la sobrecarga (datos no mostrados). No se ha diagnosticado ninguna deficiencia de sepiapterina reductasa.

*Deficiencia del transporte de glucosa*

Se ha diagnosticado a 2 pacientes, no emparentados entre sí, con déficit de glucosa cerebral. Ambos casos presentaron una relación glucosa LCR/plasma inferior a los valores de referencia (0,40 y 0,31, respectivamente). El primero presentó la mutación (1346-1349del) en heterocigosis del gen *SLC2A1* (GLUT-1), que induce un codón de *stop* y da una proteína incompleta no funcional, mientras el segundo caso está pendiente de la confirmación genética.

*Deficiencia del transporte de 5-MTHF*

Se ha encontrado a 43 pacientes con concentraciones disminuidas de 5-MTHF en LCR, que variaron de leves a profundas (tabla 3). En estos 43 casos se ha podido establecer diferentes diagnósticos: 4 con enfermedades mitocondriales (3 de ellos con KSS), 8 pacientes con síndrome de Rett, 4 con clínica compatible con un déficit de 5-MTHF cerebral causado por autoanticuerpos contra el receptor de folato, y 27 con trastornos del movimiento y encefalopatías epilépticas graves pendientes de diagnóstico definitivo.

**Discusión**

La existencia de un protocolo de extracción de muestras en el que se recoge simultáneamente sangre y LCR permite estudiar –además de los ECM de los neurotransmisores y las pterinas y los déficit del transporte de glucosa y folato a través de la barrera hematoencefálica– otras enfermedades que sólo se puede diagnosticar mediante el estudio en LCR, como di-

TABLA 3

**Resultados de los valores de referencia para el 5-metiltetrahidrofolato, grupo de pacientes con síndrome de Rett, síndrome de Kern-Sayre y deficiencia cerebral de folato**

Grupo	Edad, años	5-MTHF LCR (nmol/l)	Folato plasma (nmol/l)	LCR/plasma
Control (n = 12)	0-1	63-129 103 (20,4)	20-52 32 (9,58)	1,6-6,3 3,5 (1,2)
Control (n = 32)	2-3	44-122 72 (19,1)	12-64 34 (13,5)	1,2-4,4 2,4 (0,9)
Control (n = 19)	4-18	42-81 56 (10,7)	12-27 18 (4,9)	1,8-4,3 3,2 (0,7)
Síndrome de Rett (n = 8)	2-19	19-43 35 (7,4)	8,8-43,8 21,1 (14,4)	0,43-4,3 2,58 (1,3)
KSS (n = 3)	7-34	0,6-24,2 10,8	5,3-14,2 9,8 (4,45)	0,06-4,57 1,72 (2,47)
DFC (n = 4)	1-8	3-41 27 (18,4)	5,1-20,0 13,2 (7,1)	0,59-2,36 1,8 (0,83)

5-MTHF: 5-metiltetrahidrofolato; KSS: síndrome de Kern-Sayre; DFC: deficiencia cerebral de folato; LCR: líquido cefalorraquídeo. Los valores se expresan como rango, media y desviación típica (entre paréntesis).

ferentes aminoacidopatías (tabla 1)<sup>15</sup>. Este estudio ha permitido el diagnóstico de nuevos pacientes con deficiencias primarias de NT y pterinas y de pacientes con deficiencias de transporte a través de la barrera hematoencefálica en España y Portugal. En cuanto a las alteraciones primarias de los NT, se ha diagnosticado 3 casos de deficiencia de TH (en una misma familia) en 283 pacientes estudiados, lo que confirma que son enfermedades raras también en nuestro medio. El caso índice de esta familia fue estudiado durante 3 años en nuestro hospital, pero sólo se alcanzó el diagnóstico tras la extracción del LCR. El diagnóstico definitivo de esta enfermedad se realiza mediante el estudio genético, ya que la actividad enzimática sólo se puede medir en cerebro o en las glándulas suprarrenales<sup>3</sup>. Se ha diagnosticado también 2 casos de distonía sensible a L-dopa, con clínica y bioquímica compatibles con un déficit de TH. Por el momento, se ha secuenciado los 14 exones del gen de la TH y no se ha encontrado mutaciones, aunque está aún pendiente la secuenciación de la región promotora, donde recientemente se han descrito nuevas mutaciones<sup>20</sup>. La respuesta al tratamiento está siendo muy buena (el tratamiento con L-dopa ha mejorado notablemente los movimientos anómalos y el desarrollo psicomotor general de los pacientes), lo que refuerza la necesidad de aplicar este tipo de protocolos diagnósticos. La deficiencia de AADC parece una entidad más rara en nuestro medio, ya que no hemos encontrado ningún paciente por el momento. Respecto a la deficiencia de DβH, tampoco se ha diagnosticado ningún caso, ya que su síntoma principal es la hipotensión ortostática<sup>21</sup> y no se ha practicado el estudio en LCR por ese motivo. En cualquier caso, el marcador bioquímico más adecuado es la cuantificación de la relación noradrenalina/dopamina en plasma<sup>21</sup>, que no ha sido determinada en este estudio.

Se ha diagnosticado 14 casos de la enfermedad de Segawa (GTP-CH1), 13 de ellos de una misma familia. Para el diagnóstico de esta enfermedad, es esencial el análisis de pterinas en LCR, ya que hasta un 40% de los casos con enfermedad de Segawa no presentan mutaciones en el gen *GTP-CH1*<sup>22</sup>. Desde hace unos años se aplica también la sobrecarga de fenilalanina como prueba diagnóstica para esta enfermedad<sup>23,24</sup>. Hemos utilizado la sobrecarga de fenilalanina para el diagnóstico de 12 pacientes de una misma familia, en la que ya había un caso índice previamente diagnosticado mediante el estudio en LCR y su posterior confirmación genética. Ninguno de los pacientes fue detectado por el diagnóstico precoz de la fenilcetonuria, a pesar de que la BH4 es el cofactor de la enzima fenilalanina hidroxilasa. Esto se debe a que la concentración de BH4 está parcialmente reducida en la enfermedad de Segawa, por lo que en estos pacientes sólo se altera la función de la fenilalanina hidroxilasa en condiciones extremas, como una sobrecarga de fenilalanina<sup>22</sup>. No se ha diagnosticado ningún caso de SR, lo que lleva a pensar que es una enfermedad menos frecuente en nuestro medio.

El déficit de GLUT-1, a pesar de ser una entidad descrita y bien conocida desde hace años<sup>9</sup>, no deja de ser una enfermedad rara en cuanto a su incidencia se refiere, ya que se ha diagnosticado sólo 2 casos. Es una enfermedad fácil de diagnosticar, ya que el análisis de glucosa está disponible en todos los laboratorios clínicos y la confirmación diagnóstica es posible con el estudio de mutaciones en el gen *GLUT-1*<sup>25</sup>. Asimismo, la mayoría de estos pacientes responde muy bien a la dieta cetogénica, que permite controlar sobre todo la epilepsia, que característicamente suele ser rebelde al tratamiento con antiepilépticos<sup>8</sup>. Es aconsejable, por

tanto, descartar esta enfermedad en todos los pacientes con epilepsias rebeldes a tratamientos convencionales.

El estudio simultáneo de sangre y LCR ha permitido detectar a 4 pacientes con clínica y bioquímica compatibles con un defecto cerebral de folato causado por autoanticuerpos contra el receptor de alta afinidad de folato del plexo coroideo (estudios en curso). Más interesantes aún han sido los defectos secundarios de 5-MTHF en LCR que se ha encontrado en 39 pacientes, de los que algunos están diagnosticados de otras enfermedades como síndrome de Rett o KSS, como ya se había publicado previamente<sup>11</sup>. La respuesta al tratamiento con ácido folínico en todos ellos ha mejorado los síntomas en diferente grado, por lo que es interesante incluir el análisis de este metabolito en LCR para la detección precoz de su deficiencia<sup>7</sup>.

En definitiva, este estudio ha permitido el diagnóstico de nuevos pacientes y, lo que es más importante, el establecimiento en todos ellos de un tratamiento farmacológico o nutricional. Las deficiencias de 5-MTHF han sido las más frecuentes y se las ha detectado en diferentes grupos de pacientes.

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Hyland K, Surtees R, Heales S, Bowron A, Howells D, Smith I. Cerebrospinal fluid concentrations of pterins and metabolites of serotonin and dopamine in a pediatric reference population. *Pediatric Research*. 1993;34:10-4.
- Kaufman S. Regulatory properties of pterin dependent hydroxylases: variation on a theme. En: Usdin E, Weiner N, Youdim MBH, editores. *Function and regulation of monoamine enzymes*. New York: Macmillan; 1981. p. 165.
- Blau N, Thöny B, Cotton R, Hyland K. Disorders of tetrahydrobiopterin and related biogenic amines. En: Scriver C, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editores. *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. New York: McGraw-Hill; 2001. p. 1725-76.
- García-Cazorla A, Ormazabal A, Artuch R, Pérez-Dueñas B, López-Casas J, Fernández-Álvarez E, et al. Errores congénitos de los neurotransmisores en neuropediatría. *Rev Neurol*. 2005;41:99-108.
- Bonafé L, Thöny B, Penzien JP, Czarnecki B, Blau N. Mutations in the sepiapterin reductase gene cause a novel tetrahydrobiopterin-dependent monoamine-neurotransmitter deficiency without hyperphenylalaninemia. *Am J Hum Genet*. 2001;69:269-77.
- Ichinose H, Ohye T, Takahashi E, Seki N, Hori T, Segawa M, et al. Hereditary progressive dystonia with marked diurnal fluctuation caused by mutation in the GTP cyclohydrolase I gene. *Nature Genet*. 1994;8:236-42.
- Ramaekers VT, Blau N. Cerebral folate deficiency. *Dev Med Child Neurol*. 2004;46:843-51.
- Klepper J, Voit T. Facilitated glucose transporter protein type 1 (GLUT1) deficiency syndrome: impaired glucose transport into brain - a review. *Eur J Pediatr*. 2002;161:295-304.
- Pascual JM, Wang D, Lecumberri B, Yang H, Mao X, Yang R, et al. GLUT1 deficiency and other glucose transporter diseases. *Eur J Endocrinol*. 2004;150:627-33.

10. Ramaekers VT, Rothenberg SP, Sequeira JM, Opladen T, Blau N, Quadros EV, et al. Autoantibodies to folate receptors in the cerebral folate deficiency syndrome. *N Engl J Med*. 2005;352:1985-91.
11. Ramaekers VT, Hansen SI, Holm J, Opladen T, Senderek J, Häusler M, et al. Reduced folate transport to the CNS in female Rett patients. *Neurology*. 2003;61:506-15.
12. Pineda M, Ormazabal A, López-Gallardo E, Nascimento A, Solano A, Herrero MD, et al. Cerebral folate deficiency and leukoencephalopathy caused by a mitochondrial DNA deletion. *Ann Neurol*. 2005;46:19.
13. Blau N, Bonafé L, Krägeloh-Mann I, Thöny B, Kierat L, Häuser M, et al. Cerebrospinal fluid pterins and folates in Aicardi-Goutieres syndrome: a new phenotype. *Neurology*. 2003;61:642-7.
14. Hyland K, Lauren A, Arnold MS. Value of lumbar puncture in the diagnosis of genetic metabolic encephalopathies. *J Child Neurol*. 1999;14 Suppl 1:S9.
15. Hoffmann GF, Surtees RAH, Wevers RA. Cerebrospinal fluid investigations for neurometabolic disorder. *Neuropediatrics*. 1998;20:59-71.
16. Ormazabal A, García-Cazorla A, Fernández Y, Fernández-Álvarez E, Campistol J, Artuch R. HPLC with electrochemical and fluorescence detection procedures for the diagnosis of inborn errors of biogenic amines and pterins. *J Neurosci Methods*. 2005;142:153-8.
17. Ormazabal A, Artuch R, Vimaseca MA, Aracil A, Pineda M. Cerebrospinal fluid concentrations of folate, biogenic amines and pterins in Rett syndrome: treatment with folinic acid. *Neuropediatrics*. 2005;36:380-5.
18. Zorzi G, Redweik U, Trippe H, Penzien JM, Thöny B, Blau N. Detection of sepiapterin in CSF of patients with sepiapterin reductase deficiency. *Mol Genet Metab*. 2002;75:174-7.
19. Möller L, Romstad A, Paulsen M, Hougaard P, Ormazabal A, Pineda M, et al. Pre- and postnatal diagnosis of tyrosine hydroxylase deficiency. *Prenat Diagn*. 2005;25:671-5.
20. Verbeek M, Steenbergen-Spanjers G, Willemssen M, Van den Heuvel B, Hoffmann G, Zamarchi E, et al. Dopa responsive dystonia caused by promoter mutations in the tyrosine hydroxylase gene. *J Inherit Metab Dis*. 2005;28 Suppl 1:233.
21. Robertson D, Haile V, Perry SE, Robertson RM, Phillips JA, Biaggioni I. Dopamine  $\beta$ -hydroxylase deficiency: a genetic disorder of cardiovascular regulation. *Hypertension*. 1991;18:1.
22. Saunders-Pullma R, Blau N, Hyland K, Zschocke J, Nygaard T, Raymond D, et al. Phenylalanine loading as a diagnostic test for DRD: interpreting the utility of the test. *Mol Genet Metab*. 2004;83:207-12.
23. Hyland K, Fryburg JS, Wilson WG, Bebin EM, Arnold LA, Gunasekera RS, et al. Oral phenylalanine loading in dopa-responsive dystonia: a possible diagnostic test. *Neurology*. 1997;48:1290-7.
24. Blau N, Thöny B, Renneberg A, Penzien JM, Hyland K, Hoffmann G. Variant of dihydropteridine reductase deficiency without hyperphenylalaninemia: effect of oral phenylalanine loading. *J Inherit Metab Dis*. 1999;22:216-20.
25. Gordon N, Newton RW. Glucose transporter (GLUT-1) deficiency. *Brain Dev*. 2003;27:477-80.