

Metodología para la determinación del Transportador de Creatina y de la actividad de Guanidinoacetato Metiltransferasa en fibroblastos

Autores

Arias A1, Corbella M2, García-Villoria J1, Briones P1, Campistol J2, Artuch R2, Ribes A1. 1Servicio de Bioquímica y Genética Molecular, Sección de errores congénitos del metabolismo, IBC, Hospital Clínico. 2Hospital San Juan de Dios, Servicio de Neurología y de Metabolopatías, Barcelona-España.

Categoría

Miscelánea

Resumen

Introducción: El síndrome de deficiencia de creatina cerebral (DCC) incluye, defectos en la síntesis (AGAT;GAMT) y del transporte de creatina (CT). Se han implementado varias técnicas bioquímicas para el cribado selectivo de este síndrome; para confirmar el diagnóstico se debe recurrir a técnicas más específicas. Nos propusimos poner a punto dos metodologías enzimáticas para diagnosticar los defectos más frecuentes (CT;GAMT).

Métodos: hemos estudiado 12 pacientes con sospecha de CT y 2 posibles GAMT. En el primer caso se estudió la incorporación de creatina (Cr) al interior de la célula; los fibroblastos fueron incubados 24h en condiciones basales y en presencia de diferentes concentraciones de Cr, la cual fue cuantificada por HPLC-MS/MS. En el caso de GAMT, a la mezcla de sustratos D3-S-adenosilmetionina; 13C2-Guanidino-acetato se le añade 85µl del homogenizado de células (pH7,5), se incuba 37°C, 2h; y la reacción se para con etanol; el producto (13C2-D3-Cr) se cuantifica por HPLC-MS/MS.

Resultados: se confirmaron 6 de los 12 pacientes con sospecha de CT. Incorporación de creatina 0,4-13% respecto a los controles. Además se confirman 2 deficiencias GAMT por su baja actividad enzimática (1,5;4,7 pmol.h⁻¹.mg prot⁻¹; Controles:116-448).

Conclusión: dado que el estudio bioquímico en fluidos biológicos puede dar falsos positivos, recomendamos realizar la confirmación diagnóstico mediante el estudio de la proteína antes de proseguir con el estudio molecular.