

Aangeboren ziekten in het creatinemetabolisme en -transport

N.M. VERHOEVEN, G.S. SALOMONS en C. JAKOBS

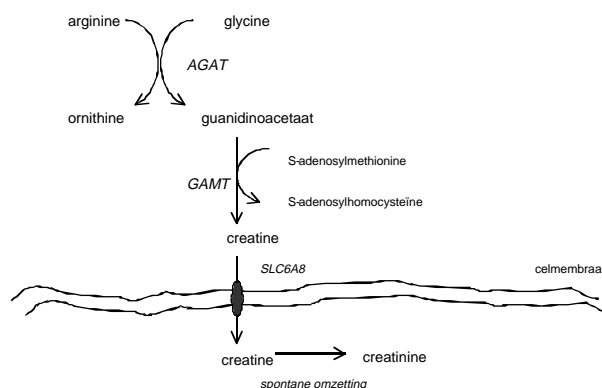
In de afgelopen jaren zijn er drie erfelijke ziekten in het metabolisme en transport van creatine beschreven. Deficiëntie van arginine: glycine-amidino-transferase, het eerste enzym in de creatinebiosynthese, is beschreven bij twee zusjes van 4 en 6 jaar oud en hun neefje van 5 jaar oud. De patiënten presenteerden zich met ontwikkelingsachterstand en een verlaagde concentratie creatine in de hersenen. De concentraties van zowel creatine als guanidinoacetaat in plasma en urine waren verlaagd. Het tweede defect is een deficiëntie van guanidinoacetaat-methyltransferase, het tweede enzym in de creatinebiosynthese. De klinische presentatie van deze ziekte varieert tussen een matige mentale retardatie en een ernstige extrapyramidale encefalopathie met ernstige epilepsie. Biochemisch kenmerkt de ziekte zich door verhoogde concentraties van guanidinoacetaat en verlaagde concentraties creatine en creatinine in lichaamsvloeistoffen. Inmiddels zijn wereldwijd meer dan 20 patiënten met een GAMT-deficiëntie bekend. Heel recent is de ontdekking van een defect in het creatinetransporter gen, gelegen op het X-chromosoom. In korte tijd zijn al meer dan 30 patiënten met deze ziekte gediagnosticeerd. Het betreft een geslachtsgebonden overervend ziektebeeld. Aangedane mannelijke patiënten hebben een duidelijke ontwikkelingsachterstand, zeer uitgesproken op het gebied van taal en spraak, en vaak ook epilepsie. Draagsters hebben mildere of geen symptomen. Voor biochemische diagnostiek van defecten in het creatinemetabolisme kan worden begonnen met analyse van creatine en guanidinoacetaat in zowel plasma als urine. Bevestiging van de diagnose kan middels enzymassays en een functionele creatineopname-assay in fibroblasten en door mutatiestudies van de betreffende genen. Bij alle drie de ziektebeelden worden verlaagde concentraties creatine gevonden bij in vivo magnetische resonantie spectroscopie van de hersenen.

Trefwoorden: creatine; guanidinoacetaat; GAMT; AGAT; transporter; stofwisselingsziekte; erfelijke metabole ziekte

Metabool Laboratorium, Afdeling Klinische Chemie, VU medisch centrum, Amsterdam

Correspondentie: Dr. N.M. Verhoeven, Metabool Laboratorium, Afdeling Klinische Chemie, VU medisch centrum, Amsterdam
E-mail: N.Verhoeven@vumc.nl

Creatine (afgeleid van het griekse woord kreas, vlees) is een belangrijke metaboliet voor de opslag van energie in het menselijk lichaam. De laatste jaren is de interesse in creatine en het creatinemetabolisme sterk toegenomen. Met name het gebruik van creatine bij de behandeling van neurologische en spierziekten en het gebruik van creatineanalogen als antikankermiddelen heeft de aandacht getrokken. Inname van creatine door sporters, met als doel de sportieve prestatie te verbeteren, is populair. Ook in het vakgebied van de erfelijke stofwisselingsziekten is de interesse in het creatinemetabolisme toegenomen, hetgeen veroorzaakt is door de ontdekking van drie ziekten in het creatinemetabolisme. Het grootste deel van het lichaamscreatine bevindt zich in de spier, waar het reversibel wordt omgezet in creatinefosfaat door het enzym creatinekinase (zie voor een overzicht 1). Ook in de retina en spermatozoa zijn relatief hoge creatineconcentraties aanwezig, terwijl in de hersenen een intermediaire concentratie aanwezig is. Lage creatineconcentraties worden gevonden in longen, lever en nieren. Bij de omzetting van creatinefosfaat in creatine komt energie vrij de in de vorm van ATP. Creatine in het lichaam is afkomstig uit twee bronnen: de voeding (voornamelijk uit vlees en vis) en endogene biosynthese (figuur 1). De biosynthese begint met de omzetting van glycine en arginine door het enzym L-arginine:glycine-amidino-transferase (AGAT; EC 2.1.4.1) in guanidinoacetaat en ornithine. Het gevormde guanidinoacetaat wordt gemethyleerd in een reactie die gekatalyseerd wordt door guanidinoacetaat-methyltransferase (S-adenosyl-L-methionine: N-guanidinoacetaat-methyltransferase, GAMT; EC 2.1.1.2). De methyl donor S-adenosylmethionine wordt hierbij omgezet in S-adenosylhomocysteïne.



Figuur 1. Het metabolisme van creatine.

Tabel 1. Aangeboren defecten in creatinemetabolisme en -transport

Ziektebeeld	Enzymdefect	Enzymnr.	McKusick-nr.	Localisatie
AGAT-deficiëntie	L-arginine:glycine-amidino-transferase	2.1.4.1	602360	15q15.1
GAMT-deficiëntie	S-adenosyl-L-methionine: N-guanidinoacetaatmethyltransferase	2.1.1.2	601240	19p13.3
Creatinetransporterdefect	Solute Carrier 6A8	300036	Xq28	

Tabel 2. Mutaties in de betreffende genen en concentraties van guanidinoacetaat (guac) en creatine in urine (mmol/mol creatinine) en plasma ($\mu\text{mol/l}$) van patiënten met GAMT-deficiëntie (n=4), AGAT-deficiëntie (n=2) en een defect in de creatinetransporter (SLC6A8) (n=7)

	leeftijd ¹	mutatie	guac in urine	creatine in urine	guac in plasma	creatine in plasma
GAMT 1	3	c 327G-A	3597-5139	274-278	38-39	2-7
GAMT 2	5	g1637-1787del1151bp	453-795	13-30	16-24	0-4
GAMT 3	25	c491-492insG	589-634	31-39	12	1
GAMT 4	2	W174X en c327G-A	28091	336	n.g. ²	n.g. ²
AGAT 1 ³	4	T149X	verlaagd	n.g. ²	normaal	normaal
AGAT 2 ³	6	T149X	verlaagd	n.g. ²	normaal	normaal
SLC6A8 1	7	R154X	normaal	1500	normaal	75
SLC6A8 2	20	delF107	normaal	3100	normaal	95
SLC6A8 3	4	delF408	normaal	3100	normaal	68
SLC6A8 4	2	Y262X	normaal	5500	normaal	96
SLC6A8 5	4	delF408	normaal	4500	normaal	83
SLC6A8 6	66	G381R	normaal	2500	normaal	
SLC6A8 7	2	deletie van 3'-eind van gen	normaal	3800	normaal	69
referentie- waarden (n)			<15 jr: 2-220 (104) >15 jr: 3-78 (40)	4-12 jr 17-721 (36) >12 jr 11-244 (47)	<15 jr 0,35-1,8 (33) >15 jr 1,0-3,5 (21)	<10 jr 17-109 (33) >10 jr 6-50 (32)

¹ Leeftijd in jaren ² n.g.: niet gemeten ³ Gegevens uit ref. 7

In de mens komen de enzymen AGAT en GAMT voor in de pancreas en de lever. AGAT komt, in tegenstelling tot GAMT, ook hoog tot expressie in de nier. Op basis van deze en andere bevindingen wordt ervan uitgegaan dat de belangrijkste route voor creatinebiosynthese begint met de vorming van guanidinoacetaat in de nier, transport van guanidinoacetaat door het bloed en methylering tot creatine in de lever. Het gevormde creatine wordt door het bloed naar de spieren en de hersenen getransporteerd, waar het wordt opgenomen middels de creatinetransporter (SLC6A8). Een klein deel (ca. 1,5%) van het in de cellen aanwezige creatine wordt dagelijks spontaan omgezet in creatinine, een metabool eindproduct. Creatinine wordt uitgescheiden door de nier.

Sinds enkele jaren is bekend dat er aangeboren stofwisselingsziekten bestaan in de biosynthese en het transport van creatine (tabel 1). Dit artikel vat onze ervaring met deze drie ziektebeelden en de huidige literatuur hierover samen.

Arginine: glycine-amidino-transferasedeficiëntie

In 2000 werden de eerste patiënten met een deficiëntie van AGAT beschreven (2,3). Twee zusjes, van 4 en 6 jaar oud, presenteerden zich met een ontwikkelingsachterstand en ernstige spraak-taalachterstand. Zij

hadden geen epilepsie. Wel had één van de meisjes eenmaal een koortsconvulsie. Bij deze kinderen werd middels in-vivo-spectroscopie van de hersenen een tekort aan creatine waargenomen. Guanidinoacetaat in urine bleek bij deze meisjes verlaagd (tabel 2). De arginine- en glycineconcentraties waren normaal. Het vermoeden van een deficiëntie van AGAT werd bevestigd middels een radioactieve enzymassay in lymfoblasten en fibroblasten en mutatiestudies. Behandeling van beide meisjes met creatinemonohydraat liet een duidelijke toename van de concentratie van creatine in de hersenen zien. De ouders bleken dragers van de mutatie. In 2002 werd een derde patiënt met AGAT-deficiëntie beschreven. Het betreft een jongetje van 5 jaar oud, een neefje van de bovenbeschreven meisjes. Dit jongetje presenteerde zich op de leeftijd van 2 jaar met psychomotorische en taalachterstand (4).

Recent hebben wij een enzymassay in lymfoblasten en lymfocyten ontwikkeld, gebaseerd op omzetting van stabiele-isotoop-gelabelde substraten en gaschromatografische-massaspectrometrische detectie van productvorming (5). In lymfoblasten van een van de bovenbeschreven patiënten werd een niet-detecteerbare AGAT-activiteit gevonden (tabel 3). Tevens is DNA-sequentieanalyse van het AGAT-gen mogelijk in het Metabool Laboratorium van het VUMC.

GAMT-deficiëntie

De eerste patiënten met een deficiëntie van GAMT werden beschreven door de groepen van Stöckler in Wenen en Hanefeld in Göttingen (6, 7). De eerste patiënt werd op de leeftijd van 22 maanden verwezen naar de kinderneuroloog naar aanleiding van spierzwakte en een progressieve extrapyramidale bewegingsstoornis. Bij in-vivo-proton-NMR-spectroscopie van de hersenen werd een afwezigheid van creatine en toename van guanidinoacetaat in de hersenen waargenomen. Deze bevinding suggereerde een defect in de vorming of opname van creatine in de hersenen. Analyse van creatine in lichaamsvloeistoffen bevestigde het tekort aan creatine zoals gevonden in de hersenen (zie tabel 2). Kwantificering van guanidinoacetaat, de directe precursor van creatine, in urine, plasma en CSF, toonde een sterke verhoging. Deze bevindingen wezen in de richting van een deficiëntie in de creatinebiosynthese, hetgeen enzymatisch werd bevestigd (GAMT-deficiëntie) (tabel 3). Analyse van het GAMT-cDNA in de patiënt toonde twee verschillende mutaties, een basenpaarverandering en een 3-baseparen-insertie.

Sinds de beschrijving van de eerste GAMT-deficiënte patiënt zijn er meer dan 20 patiënten gediagnosticeerd. In 1998 beschreven wij twee patiënten die zich presenteerden met autistiform gedrag en milde ontwikkelingsachterstand (8). Bij metabool urineonderzoek bij deze patiënten werden gegeneraliseerde verhogingen van aminozuren, organische zuren en andere onderzochte metabolieten, allen uitgedrukt per creatinine, gevonden. Dit profiel van gegeneraliseerde verhogingen deed een tekort aan creatine met een daaruit volgend verlaagde creatinineconcentratie, vermoeden. In-vivo-spectroscopie van de hersenen bevestigde het creatinetekort. In lichaamsvloeistoffen werd een verhoogde concentratie guanidinoacetaat gevonden. De diagnose GAMT-deficiëntie werd op enzymatisch en moleculair niveau bevestigd. Het klinisch beeld van een deficiëntie van GAMT bleek hiermee heterogeen, en variërend van een milde achterstand met gedragsafwijkingen tot een ernstig neurologisch beeld. Meestal is er echter sprake van een ontwikkelingsachterstand die tot uiting komt in de tweede helft van het eerste levensjaar.

Behandeling van patiënten met GAMT-deficiëntie bestaat uit de suppletie van creatinemonohydraat. Dit kan, binnen een behandelingsperiode van enkele maanden, leiden tot bijna genormaliseerde creatineconcentraties in de hersenen. De concentratie creatine in plasma stijgt naar verhoogde waarden, de concen-

tratie guanidinoacetaat neemt af maar blijft verhoogd. Inmiddels wordt ook onderzoek gedaan naar behandeling met creatinesuppletie in combinatie met ornithinesuppletie en een eiwitarm dieet. De gedachte hierachter is dat de hoge ornithineconcentraties en de eiwitbeperking de biosynthese van het potentieel toxische guanidinoacetaat remmen (9). Klinisch zijn er belangrijke verbeteringen van de conditie van de patiënt: de epilepsie neemt sterk af en het gedrag verbetert beduidend. Helaas verdwijnen niet alle symptomen. Vermoedelijk is een vroege diagnose, gevolgd door creatinesuppletie, essentieel voor een goede respons op therapie.

Diagnostiek van GAMT-deficiëntie omvat naast de analyse van guanidinoacetaat in lichaamsvloeistoffen, de analyse van het GAMT-enzym en DNA-sequentieanalyse. De enzymassay die wij ontwikkeld hebben maakt gebruik van stabiele isotoop-gelabelde substraten en massaspectrometrische detectie van productvorming (10). Onze ervaringen met deze assay en met DNA-sequentieanalyse staan samengevat in tabel 2 en 3.

Een defect in SLC6A8, de X-gebonden creatinetransporter

In 2000 beschreven wij, in samenwerking met DeGrauw, Cincinnati USA, de eerste patiënt met een creatinetekort in de hersenen veroorzaakt door een mutatie in de creatinetransporter (11, 12). Klinisch presenteerde deze 7-jarige jongen zich bij de kinderneuroloog met ontwikkelingsachterstand, een zeer duidelijke spraak-taalachterstand (afwezigheid van actieve taal op de leeftijd van 7 jaar) en epilepsie. Naar aanleiding van een toenemende schedelomvang werd in-vivo-proton-magnetische-resonantiespectroscopie van de hersenen verricht, waarbij afwezigheid van het creatinesignaal werd waargenomen. Bij het hierna uitgevoerde biochemisch onderzoek werden licht verhoogde concentraties van creatine en normale concentraties van guanidinoacetaat in urine gevonden, waarmee deficiënties van GAMT en AGAT waren uitgesloten. Familiaanamnese van deze jongen leidde tot het vermoeden van een geslachtsgebonden overerving van de klinische verschijnselen: moeder en oma hadden leerproblemen en IQ's van 79 en 76 respectievelijk en de broer van moeder had ernstige ontwikkelingsachterstand. Het totaal aan bevindingen suggereerde een defect in het creatinetransporter gen (SLC6A8) dat gelokaliseerd is op het X-chromosoom. DNA-sequentieanalyse bij de familie bevestigde deze hypothese (tabel 2).

Tabel 3. Activiteit van GAMT en AGAT in controlecellijnen en patiënten met GAMT- en AGAT-deficiëntie, zoals bepaald met enzymassays gebaseerd op stabiele-isotopen-gelabelde substraten

	lymfoblasten	lymfocyten	fibroblasten
AGAT (pmol/min mg eiwit)			
Controles (n)	21-70 (8)	1,3-8,5 (16)	niet detecteerbaar
Patiënt	<1	niet onderzocht	
GAMT (pmol/uur mg eiwit)			
Controles (n)	63-450 (10)	niet onderzocht	60-243 (7)
Patiënten (n=7)	<5	niet onderzocht	<5

Een poging tot behandeling van de patiënt met 800 mg/kg creatinemonohydraat per dag gedurende drie maanden leidde helaas niet tot normalisatie van de creatineconcentratie in de hersenen, ondanks de sterk toegenomen concentratie creatine in bloed. Ook klinisch was geen effect waar te nemen van deze behandeling. De creatineconcentratie in liquor bleek wel (hoog)normaal, wat suggereert dat het gesuppleerde creatine wel de hersenvloeistof bereikt, maar niet de cel in getransporteerd kan worden.

Inmiddels zijn er meer dan 30 patiënten met een mutatie in de creatinetransporter bekend (13-15). Opvallend bij alle patiënten is de expressieve taalachterstand. Ongeveer 50% van de draagsters vertoont duidelijke leer- en gedragsstoornissen. Bij de andere draagsters zijn er geen symptomen. Waarschijnlijk wordt het verschil in presentatie bij de draagsters veroorzaakt door een verschil in het X-inactivatie patroon.

Excretie van creatine in de urine lijkt een biochemische marker voor een defect in de creatinetransporter. Bij de aangedane patiënten wordt verhoogde excretie van creatine in de urine gevonden (tabel 2). Tevens hebben we een functionele test voor de opname van creatine in gekweekte huidfibroblasten ontwikkeld. Hiertoe worden fibroblasten gedurende 24 uur geïncubeerd met creatine, waarna creatineopname wordt gekwantificeerd middels stabiele-isotoopdilutie-gaschromatografie-massaspectroscopie. Bij aangedane patiënten is de opname bij fysiologische creatineconcentraties volledig afwezig.

DNA-sequentieanalyse bij aangedane mannen heeft geresulteerd in de vondst van meerdere mutaties, waaronder nonsense mutaties, 'splice variants' en deleties (tabel 2).

Diagnostische strategie

Het klinisch beeld van de drie defecten in het creatine-metabolisme en -transport is niet duidelijk homogeen en niet specifiek (tabel 4). Mentale retardatie met spraak-taalachterstand wordt bij een groot aantal erfelijke en verworven ziekten op de kinderleeftijd gevonden, evenals epilepsie en milde spierzwakte. Bij lang niet alle kinderen met deze symptomen zal uitgebreid onderzoek naar metabole ziekten worden verricht, zodat de diagnose gemist kan worden. Zelfs als

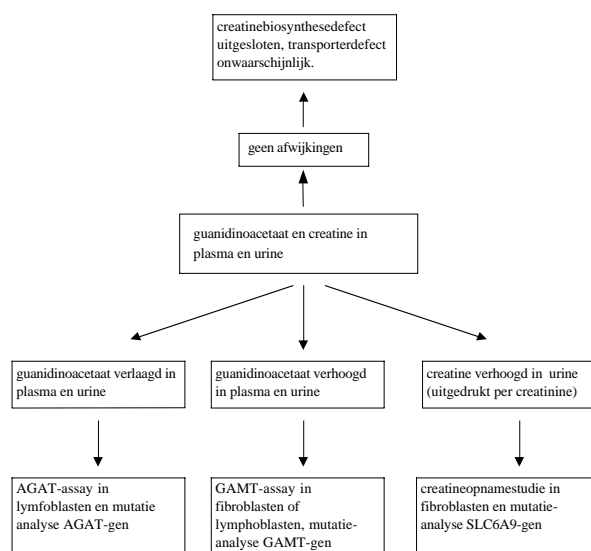
Tabel 4. Klinische symptomen bij defecten in creatinebiosynthese en -transport

Defect	Klinische symptomen
GAMT-deficiëntie	Mentale retardatie Spraak-taalontwikkelingsachterstand Epilepsie Extrapiramidale symptomen Autisme/autistiform gedrag
AGAT-deficiëntie	Mentale retardatie Spraak-taalontwikkelingsachterstand
Creatinetransporter-defect	Mentale retardatie Spraak-taalontwikkelingsachterstand Epilepsie Autisme/autistiform gedrag

er metabool onderzoek wordt verricht, zal niet altijd de diagnose worden gesteld. Het traditionele pakket dat wordt uitgevoerd bij metabool onderzoek, bestaande uit analyse van organische zuren, aminozuren en enkele andere analyses, leidt niet direct tot de diagnose van een creatinesynthese- of -transportdefect. Wel kan de uitkomst van metabool onderzoek wijzen in de richting van een creatinedeficiëntie, namelijk als gegeneraliseerde verhogingen van een groot aantal metabolieten, allen uitgedrukt per creatinine, worden gevonden. Twee patiënten met GAMT-deficiëntie zijn op deze manier onder de aandacht gekomen (8). Het is niet duidelijk of deze gegeneraliseerde verhogingen in urine bij alle patiënten met GAMT-deficiëntie en AGAT-deficiëntie gevonden kunnen worden. Bij creatinetransporterdeficiënte patiënten worden geen gegeneraliseerde verhogingen van metabolieten in urine gevonden.

In-vivo-spectroscopie van de hersenen kan een zeer duidelijke aanwijzing geven van de aanwezigheid van een creatinedeficiëntiesyndroom. Bij alledrie de beschreven defecten is de creatineconcentratie in hersenen verlaagd. In-vivo-spectroscopie is echter een nieuwe en zeer specialistische techniek, die op dit moment slechts beschikbaar is in enkele medische centra. Ook zullen patiënten met milde symptomen meestal niet worden onderworpen aan dit onderzoek.

Gericht onderzoek naar creatinedeficiëntiesyndromen is biochemisch relatief eenvoudig (figuur 2). Helaas is bepaling van creatinine in plasma niet geschikt, in elk geval niet met de Jaffé-methode, gezien de vals verhoogde creatininewaarden die zijn beschreven bij twee patiënten (16). Analyse van guanidinoacetaat en creatine in plasma is echter wel diagnostisch in zowel GAMT- als AGAT-deficiëntie (17) (tabel 2). Bevestiging van de diagnose kan voor beide defecten op enzym- en DNA-niveau. Ons laboratorium beschikt over zeer gevoelige methoden in fibroblasten en/of lymfoblasten, gebaseerd op massaspectrometrische analyse van productvorming uit stabiele isotoop-gelabelde substraten (5, 9) (tabel 3).



Figuur 2. Biochemische diagnostische benadering bij patiënten verdacht van defect in creatinebiosynthese of -transport.

Voor diagnostiek van een geslachtsgebonden creatine-transporterdefect is op dit moment niet volledig duidelijk of bepaling van de creatine-excretie een goede marker is. Alle tot nu toe gediagnosticeerde patiënten hadden licht verhoogde tot verhoogde creatineconcentratie in urine (uitgedrukt per mol creatinine) (tabel 2). Dit is echter geen specifieke bevinding en de sensitiviteit is onduidelijk. Diagnostiek van de creatinetransporterdeficiëntie kan worden verricht door in-vivo-spectroscopie van de hersenen, DNA-sequentieanalyse en creatine-opname studies in gekweekte fibroblasten. Helaas is ook het klinisch beeld specifiek en variabel, hoewel de expressieve taalachterstand een probleem is dat bij alle bekende patiënten is gevonden. Goede familieanamnese kan wijzen op een defect in de creatinetransporter bij constatering van een geslachtsgebonden overerving. De ontdekking van meer dan 30 patiënten met een defect in de geslachtsgebonden creatinetransporter en meer dan 20 patiënten met GAMT-deficiëntie in een periode van slechts enkele jaren kan wijzen op een relatief hoge frequentie van creatinedeficiëntiesyndromen. Gericht onderzoek bij patiënten met mentale retardatie, spraakachterstand en/of autisme zou kunnen leiden tot de identificatie van meerdere patiënten met een defect in het creatinemetabolisme of -transport. Belangrijk hierbij is, dat tenminste twee van de drie defecten (potentieel) te behandelen zijn met creatinesuppletie.

Literatuur

- Wyss M, Kaddurah-Daouk R. Creatine and kreatinine metabolism. *Physiol Rev* 2000; 80: 1107-1213.
- Item CB, Stockler-Ipsiroglu S, Stromberger C, Muhl A, Alessandri MG, Bianchi MC, Tosetti M, Fornai F, Cioni G. Arginine:glycine amidinotransferase deficiency: the third inborn error of creatine metabolism in humans. *Am J Hum Genet* 2001; 69: 1127-1133.
- Bianchi MC, Tosetti M, Fornai F, Alessandri MG, Cipriani P, De Vito G, Canapicchi R.: Reversible brain creatine deficiency in two sisters with normal blood creatine level. *Ann Neurol* 2000; 47: 511-513.
- Battini R, Leuzzi V, Carducci C, Tosetti M, Bianchi MC, Item CB, Stockler-Ipsiroglu S, Cioni G. Creatine depletion in a new case with AGAT deficiency: clinical and genetic study in a large pedigree. *Mol Genet Metab* 2002; 77: 326-331.
- Verhoeven NM, Schor DSM, Roos B, Battini R, Stöckler-Ipsiroglu S, et al. Diagnostic enzyme assay that uses stable-isotope-labeled substrates to detect L-arginine: glycine amidinotransferase deficiency. *Clin Chem* 2003; 49: 803-805.
- Stöckler S, Holzbach U, Hanefeld F, Marquardt I, Helms G, Reuquart M, Hanicke W, Frahm J. Creatine deficiency in the brain: a new, treatable inborn error of metabolism. *Pediatr Res* 1994; 36: 409-413.
- Stöckler S, Isbrandt D, Hanefeld F, Schmidt B, von Figura K. Guanidinoacetate methyltransferase deficiency: the first inborn error of creatine metabolism in man. *Am J Hum Genet* 1996; 58: 914-922.
- Knaap MS van der, Verhoeven NM, Maaswinkel-Mooij P, Pouwels PJ, Onkenhout W, Peeters EA, Stockler-Ipsiroglu S, Jakobs C. Mental retardation and behavioral problems as presenting signs of a creatine synthesis defect. *Ann Neurol* 2000; 47: 540-543.
- 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* 2003; 74: 413-419.
- Verhoeven NM, Roos B, Struys EA, Salomons GS, Van der Knaap MS, Jakobs C. Enzyme assay for diagnosis of guanidinoacetate methyltransferase deficiency. *Clin Chem*, accepted.
- Salomons GS, van Dooren SJM, Verhoeven NM, Cecil KM, Ball WS, Degrauw TJ, Jakobs C. X-linked creatine-transporter gene (SLC6A8) defect: a new creatine-deficiency syndrome. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 1497-1500.
- Cecil KM, Salomons GS, Ball WS Jr, Wong B, Chuck G, Verhoeven NM, Jakobs C, DeGrauw TJ. Irreversible brain creatine deficiency with elevated serum and urine creatine: a creatine transporter defect? *Ann Neurol* 2001; 49: 401-404.
- Hahn KA, Salomons GS, Tackels-Horne D, Wood TC, Taylor HA, Schroer RJ, Lubs HA, Jakobs C, Olson RL, Holden KR, Stevenson RE, Schwartz CE. 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: 1349-1356.
- Salomons GS, van Dooren SJ, Verhoeven NM, Marsden D, Schwartz C, Cecil KM, DeGrauw TJ, Jakobs C. X-linked creatine transporter defect: an overview. *J Inher Metab Dis* 2003; 26: 309-318.
- Bizzi A, Bugiani M, Salomons GS, Hunneman DH, Moroni I, Estienne M, Danesi U, Jakobs C, Uziel G. X-linked creatine deficiency syndrome: a novel mutation in creatine transporter gene SLC6A8. *Ann Neurol* 2002; 52: 227-231.
- Verhoeven NM, Guerand WS, Struys EA, Bouman AA, van der Knaap MS, Jakobs C. Plasma kreatinine assessment in creatine deficiency: a diagnostic pitfall. *J Inher Metab Dis* 2000; 23: 835-840.
- Struys EA, Jansen EE, ten Brink HJ, Verhoeven NM, van der Knaap MS, Jakobs C. An accurate stable isotope dilution gas chromatographic-mass spectrometric approach to the diagnosis of guanidinoacetate methyltransferase deficiency. *J Pharm Biomed Anal* 1998; 18: 659-665.

Summary

Genetic defects in creatine metabolism and transport. Verhoeven NM, Salomons GS, Jakobs C. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2004; 29; 24-28.

In the past years, three inborn errors in the metabolism and transport of creatine have been described. Deficiency of arginine:glycine amidinotransferase, the first enzyme in creatine biosynthesis, has recently been described in two sisters of 4 and 6 years of age and their 5-year-old relative. They presented with mental retardation and a decreased concentration of creatine in brain. The concentrations of both guanidinoacetate and creatine in plasma and urine were decreased. The second defect is a deficiency of guanidinoacetate methyltransferase (GAMT), the second enzyme of the creatine-biosynthetic pathway. The clinical presentation of affected patients varies between mental retardation and severe extrapyramidal encephalopathy and intractable epilepsy. Biochemically, the disease is characterised by elevated concentrations of guanidinoacetate and decreased concentrations of creatine and creatinine in body fluids. Worldwide, more than 30 affected patients have been reported. A defect in the creatine transporter gene, localised on the X-chromosome, has been described in more than 20 families. The disease has an X-linked inheritance pattern. Affected males have a significant developmental and speech delay and often epilepsy. Carriers have milder or no symptoms. For biochemical diagnosis of the defects in creatine metabolism and transport, analysis of guanidinoacetate and creatine in urine and plasma can be performed. The diagnosis can be confirmed by enzyme and transport assays in cultured cells. Furthermore, mutation analysis is available for all three diseases. In all three described defects, brain creatine concentrations are decreased as can be found by in vivo magnetic resonance spectroscopy of the brain.

Key words: creatine; guanidinoacetate; GAMT; AGAT; transporter; inborn error metabolism; inherited disease