

Aciduria D-2-hidroxiglutarica. Reporte de dos casos.

*Antionieta Mahfoud¹, Carmen Luisa Domínguez¹, Mohamed Rashed², Marinus Durán³,
Tania Rodríguez¹, Daniel Rodríguez¹ y Vanesa Landa¹.*

¹Unidad de Errores Innatos del Metabolismo (UDEIM), Centro de Biociencias y Medicina Molecular, Instituto de Estudios Avanzados-IDEA. Caracas, Venezuela,

²Metabolic Screening Laboratory, King Faisal Specialist Hospital & Research Centre. Saudi Arabia, ³Laboratory of Genetic Metabolic Diseases. Emma Children's Hospital AMC. University of Amsterdam, Holland.

Palabras clave: Aciduria D-2-hidroxiglutarica, encefalopatía epiléptica, hipotonía.

Resumen. La aciduria D-2-hidroxiglutarica (D-2-HGA), es una aciduria orgánica cerebral, caracterizada por la acumulación de concentraciones anormales de ácido D-2-hidroxiglutarico en orina, sangre y líquido cefalorraquídeo. El fenotipo clínico es variable, observándose desde una encefalopatía epiléptica severa hasta una forma asintomática. Las imágenes de resonancia magnética de los pacientes afectados, frecuentemente muestran signos de retardo en la maduración cerebral, anomalías ventriculares y la presencia de quistes subependimarios en los primeros meses de vida. A continuación presentamos las alteraciones clínicas, bioquímicas y de neuroimagen de dos pacientes con aciduria D-2-hidroxiglutarica. Uno de los pacientes se presentó con una encefalopatía epiléptica severa de inicio temprano, marcada hipotonía, déficit visual, retardo en el desarrollo y signos neuroradiológicos anormales. El segundo paciente presentó hipotonía severa y retardo psicomotor. Nuestros hallazgos refuerzan el fenotipo descrito de este desorden neurometabólico hereditario poco frecuente. El diagnóstico se fundamentó en las alteraciones clínicas y el patrón de neuroimagen y se confirmó con la detección del ácido D-2-hidroxiglutarico en fluidos biológicos. Sugerimos considerar la aciduria D-2-hidroxiglutarica en el diagnóstico diferencial de todo recién nacido o lactante con encefalopatía epiléptica y disfunción del CNS de origen desconocido.

D-2-hydroxyglutaric aciduria. Report of two cases.
Invest Clin 2009; 50(3): 369 - 375

Key words: D-2-hydroxyglutaric aciduria, epileptic encephalopathy, hypotonia.

Abstract. D-2-hydroxyglutaric aciduria (D-2-HGA) is a cerebral organic aciduria characterized by the accumulation of abnormal amounts of D-2-hydroxyglutaric acid in cerebrospinal fluid, blood, and urine. The clinical phenotype varies widely from neonatal severe epileptic encephalopathy to asymptomatic. Magnetic resonance imaging of affected patients typically show signs of delayed cerebral maturation, ventricular abnormalities and the presence of sub-ependymal cysts in the first months of life. We present clinical, biochemical and brain magnetic resonance imaging data of two pediatric patients with D-2-hydroxyglutaric aciduria. One patient presented with severe early infantile-onset epileptic encephalopathy, marked hypotonia, visual deficit, developmental delay and abnormal neuroradiological findings; while the other had hypotonia and development delay. Our findings reinforce the described phenotype of this rare neurometabolic inherited disorder. The diagnostic approach is based on clinical findings and the neuroimaging pattern and is established by the detection of D-2-hydroxyglutaric acid in body fluids. We suggest considering D-2-hydroxyglutaric aciduria in the differential diagnosis of any neonate or infant with epileptic encephalopathy and CNS dysfunction of unknown origin.

Recibido: 13-11-2007. Aceptado: 20-11-2008.

INTRODUCCIÓN

La aciduria D-2-Hidroxiglutarica (D-2-HGA), fue descrita por primera vez por Chalmers y col. en 1980 (1), y hasta el momento alrededor de 75 pacientes han sido diagnosticados (2-6). Es una alteración metabólica poco frecuente, autosómica recesiva, que pertenece a un subgrupo distinto de desordenes de los ácidos orgánicos, denominado acidurias orgánicas cerebrales (7).

La expresión clínica es variable y se han descrito dos formas de presentación, una forma leve que cursa con retardo psicomotor, epilepsia tratable e hipotonía y una forma severa caracterizada por una encefalopatía epiléptica de inicio neonatal o en la infancia temprana, con retardo psicomotor severo y cardiomiopatía, y otros hallazgos

como dismorfias, vómitos episódicos, trastornos del movimiento (disonía, coreoatetosis), estridor inspiratorio y apnea (2-6).

El fenotipo bioquímico está definido por la acumulación de cantidades anormales de ácido D-2-hidroxiglutarico en líquido cefalorraquídeo, sangre y orina, detectados por métodos analíticos que separan y cuantifican individualmente los dos isómeros del ácido 2-hidroxiglutarico (2-HG) (8, 9).

El hallazgo más frecuente en Resonancia Magnética cerebral (RM), es la elongación de los ventrículos laterales, estando más afectados los occipitales que los frontales. Por otra parte, independientemente del fenotipo clínico, se han observado quistes subependimarios, retardo en la mielinización y aumento en los espacios subaracnoideos (2).

En los últimos cinco años, la investigación de la vía metabólica del ácido D-2-HG ha permitido el aislamiento y caracterización de 2 enzimas humanas importantes: la hidroxiaácido-oxoácido transhidrogenasa (HOT) y la D-2-Hidroxiglutarico deshidrogenasa (D-2-HGD); HOT es responsable por la formación del ácido D-2-hidroxiglutarico, mientras que la D-2-HGD convierte el ácido 2-HG a 2-cetoglutarato (10-12). En cuanto al tratamiento de esta enfermedad, hasta los momentos, no hay una terapia específica. En publicaciones recientes sobre la fisiopatología de la enfermedad, se ha sugerido que los síntomas clínicos probablemente están relacionados con los niveles elevados del ácido D-2-HG, por lo que futuras estrategias terapéuticas deberán estar encaminadas a la reducción del ácido D-2-HG (12).

El objetivo del presente trabajo fue reportar dos pacientes con D-2-HGA, y sugerir que se considere este diagnóstico en aquellos niños que presenten una encefalopatía epiléptica de inicio temprano y/o hipotonía y retardo psicomotor, de origen desconocido.

REPORTE DE CASOS

Caso 1

Se trata de paciente femenina de 4 meses de edad, producto de segunda gestación y padres no consanguíneos; quien a los 2 meses inició convulsiones de tipo parciales motoras, secundariamente generalizadas y clónicas multifocales, refractarias a tratamiento. El examen físico mostró: circunferencia cefálica: 40,5 cm (percentil 50). Falta de control cefálico, hipotonía severa, fijación de la mirada por corto tiempo con pobre seguimiento visual y respuesta lenta ante estímulos sonoros intensos. Reflejos tendinosos IV/IV y clonus bilateral. Los análisis de laboratorio reportaron valores normales de amonio, ácido láctico y equilibrio ácido-base, y la determinación de

ácidos orgánicos en orina, suero y líquido cefalorraquídeo mediante cromatografía de gases/espectrometría de masas (CG/EM) mostró aumento de ácido 2-hidroxiglutarico (2-HG): 818 mmol/mol creat (Valor de Referencia- V.R: 5-26,8), 192 $\mu\text{mol/L}$ (V.R.: No detectable-1,5) y 30 $\mu\text{mol/L}$ (V.R.: No detectable-3), respectivamente. Además se observó aumento de los ácidos láctico, 2-cetoglutarico, cítrico y aconítico en orina (Fig. 1A-1B). La separación enantiomérica del ácido 2-HG mediante cromatografía líquida quiral y espectrometría de masas en tandem permitió identificar la forma D del compuesto, confirmando el diagnóstico. En los estudios de neuroimagen (Figs. 2-5) se observó en la tomografía, en corte transversal hipo densidad difusa de la sustancia blanca, con dilatación de los ventrículos laterales, y elongación de los cuernos occipitales. Las imágenes de resonancia magnética mostraron en el corte sagital, atrofia cerebral e hipoplasia del cuerpo calloso y en el corte axial, retardo en la mielinización con pobre opercularización, cisuras de Silvio amplias y aumento de los espacios subaracnoideos. Además, signos de atrofia cortical y dilatación de los ventrículos laterales, a predominio occipital con elongación de las astas occipitales. La evaluación cardiovascular que incluyó un eco doppler, fue normal. Actualmente recibe tratamiento con carnitina 100 mg/kg/día, riboflavina a 100 mg/día, carbamazepina y fenobarbital.

Caso 2

Se trata de pre-escolar femenina de 2 años y 3 meses de edad, referida a nuestro centro a los 2 meses, por presentar hipotonía generalizada acentuada y retraso psicomotor. Es producto de tercera gestación, padres consanguíneos en primera línea, con antecedente de un mortinato y un hermano fallecido a los 10 años de edad con impresión diagnóstica de Miopatía Congénita. El examen físico reveló: CC: 40 cm (percentil

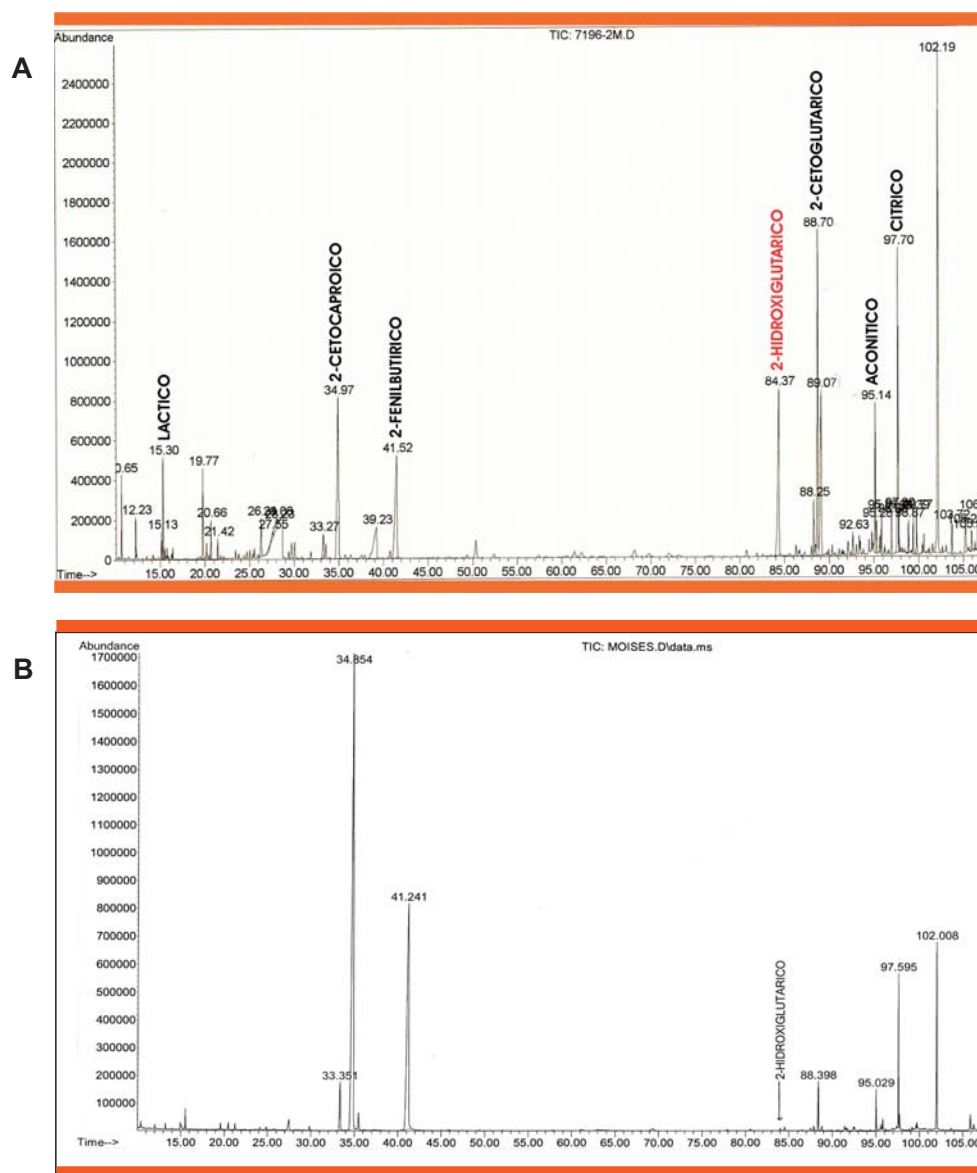


Fig. 1. (A) Cromatograma de ácidos orgánicos en orina (CG/EM) mostrando el pico de ácido 2-hidroxiglutarico. (B) Cromatograma de ácidos orgánicos en orina (CG/EM) normal.

50). Prominencia frontal, facies simétricas, con pobre expresión facial, fijación y seguimiento visual adecuado, respuesta coceopalpebral bilateral presente, succión y deglución débiles. Se apreció hipotonía del cuello y tronco, y las extremidades superiores e inferiores permanecían en extensión. Reflejos osteotendinosos II/IV. Preensión palmar y plantar débiles. Respuesta flexora plantar en extensión. En los estudios de

neuroimagen se reportó en la tomografía, acentuación de las cisuras Silvianas, atrofia cortical y aumento de los espacios subaracnoideos, y en la resonancia magnética atrofia cerebral, retardo en la mielinización y dilatación de los ventrículos laterales. El análisis de ácidos orgánicos en orina mediante cromatografía de gases/espectrometría de masas (CG/EM), reportó aumento de ácido 2-hidroxiglutarico (2-HG): 284

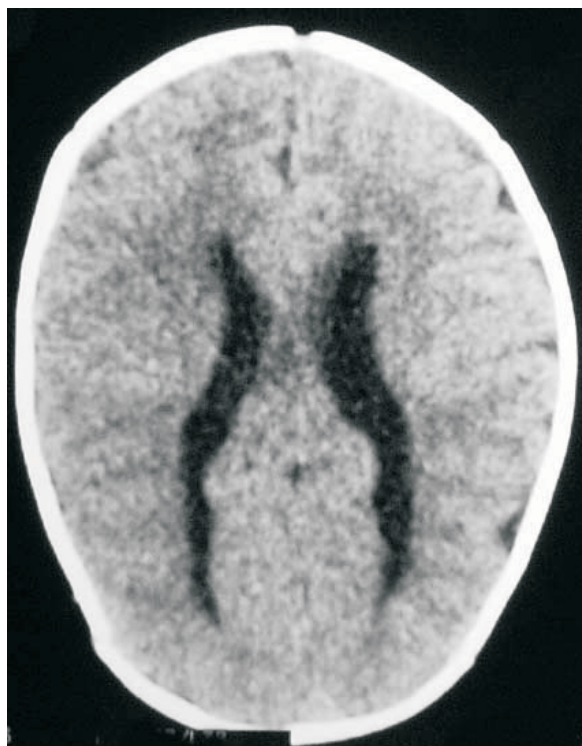


Fig. 2. Tomografía en corte transversal que muestra hipodensidad difusa de la sustancia blanca con dilatación de los ventrículos laterales y elongación de los cuernos occipitales.

mmol/mol creat (VR: 5-26,8) y de intermediarios del ciclo de Krebs como láctico, succínico y aconítico en orina. La configuración absoluta del ácido 2-HG fue determinada por separación de O-acetyl-di-(D)-2-butyl ésteres y análisis de dilución de isótopos estables por CG/EM y permitió identificar la forma D del compuesto, confirmando el diagnóstico. Actualmente cursa con retardo psicomotor severo e hipotonía. Recibe tratamiento con carnitina 100 mg/kg/día y riboflavina a 100 mg/día.

DISCUSIÓN

La D-2-HGA es un desorden neurometabólico hereditario con un fenotipo clínico que varía ampliamente, desde una forma neonatal severa hasta pacientes asintomáti-



Fig. 3. RMN cerebral. Corte sagital en T1 que muestra atrofia cerebral e hipoplasia del cuerpo calloso.

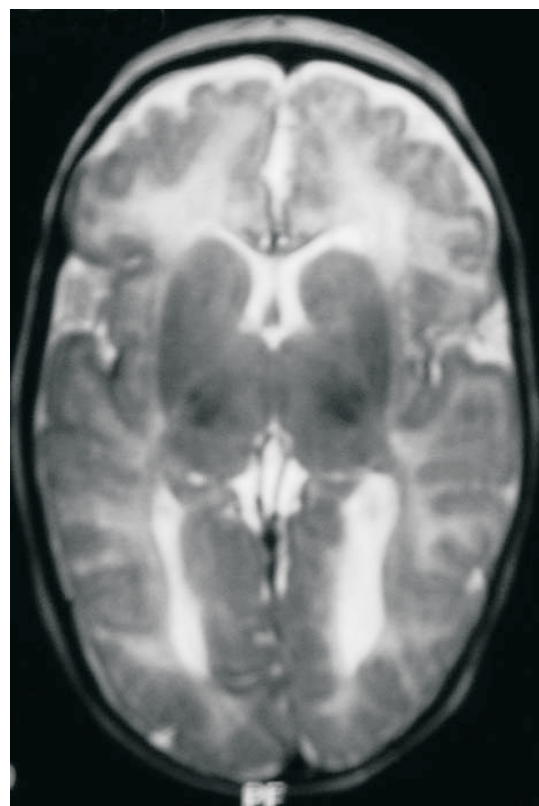


Fig. 4. RMN cerebral. Corte axial en T2 mostrando retardo en la mielinización, con pobre opercularización, Cisuras de Silvio profundas y aumento de los espacios subaracnoideos.



Fig. 5. RMN cerebral. Corte axial en T1 que muestra elongación de los ventrículos laterales a predominio de los cuernos occipitales y quiste subependimario (flecha).

cos (2-6). El cuadro clínico de nuestros pacientes es consistente con la descripción de la forma neonatal o infantil severa para el caso 1 y la forma moderada para el caso 2; y el patrón bioquímico se corresponde con lo descrito en la literatura (2-6). Así, el fenotipo clínico-bioquímico, asociado a los hallazgos de neuroimagen reportados, permitió establecer el diagnóstico.

La anormalidad bioquímica primaria es el incremento del ácido D-2-HG en los fluidos biológicos. Además, se ha reportado aumento moderado de los intermediarios del ciclo de Krebs, tales como los ácidos 2-cetoglutarico, cítrico y succínico en el análisis de ácidos orgánicos en orina, por lo que la disfunción del metabolismo energético puede estar asociada con la enfermedad (4, 12, 13). Por otra parte, se ha encontra-

do que el ácido D-2-HG inhibe la creatina kinasa en cerebelo, corteza cerebral y musculatura cardiaca y esquelética en ratas. La importancia de la actividad de la creatina kinasa en la homeostasis energética celular, permite a los autores especular que estas alteraciones desempeñan un papel importante en la fisiopatología de la D-2-HGA, especialmente en la miopatía y en la cardiopatía (14, 15). En nuestros pacientes se observó la presencia de metabolitos intermedios del ciclo de Krebs en la determinación de ácidos orgánicos en orina.

Con base a lo antes expuesto, sugerimos que todo neonato o lactante en edad temprana que se presente, con encefalopatía epiléptica sin etiología precisa, hipotonía y/o retardo psicomotor inexplicado debe ser evaluado para el descarte de errores innatos del metabolismo, indicando la determinación de ácidos orgánicos en fluidos biológicos. Por lo que es de gran importancia: 1) Mantener un alto índice de sospecha. 2) Identificar los datos clínicos orientadores y 3) Considerar la especificidad de los hallazgos de neuroimagen.

REFERENCIAS

1. Chalmers RA, Lawson AM, Watts RW, Tavill AS, Kamerling JP, Hey E, Ogilvie D. D-2-Hydroxyglutaric aciduria: case report and biochemical studies. *J Inherit Metab Dis* 1980; 3:115.
2. Nyhan WL, Shelton GD, Jakobs C, Holmes B, Bowe C, Curry CJ, Vance C, Duran M, Sweetman L. D-2-hydroxyglutaric aciduria. *J Child Neurol* 1995; 10(2):137-142.
3. van der Knaap MS, Jakobs C, Hoffmann GF, Duran M, Muntau AC, Schweitzer S, Kelley RI, Parrot-Roulaud F, Amiel J, De Lonlay P, Rabier D, Eeg-Olofsson O. D-2-Hydroxyglutaric aciduria: Further clinical delineation. *J Inherit Metab Dis* 1999; 22:404-413.
4. van der Knaap MS, Jakobs C, Hoffmann GF, Nyhan WL, Reñire WO, Smeitink JA,

- Catsman-Berrevoets CE, Hjalmarson O, Vallance H, Sugita K, Bowe CM, Herrin JT, Craigen WJ, Buist NR, Brookfield DS, Chalmers LA. D-2-Hydroxyglutaric aciduria: Biochemical marker or clinical disease entity? *Ann Neurol* 1999; 45:111-119.
5. Wajner M, Vargas CR, Funayama C, Fernández A, Elías ML, Goodman SI, Jakobs C, van der Knaap MS. D-2-Hydroxyglutaric aciduria in a patient with a severe clinical phenotype and unusual MRI findings. *J Inherit Metab Dis* 2002; 25:28-34.
 6. Eeg-Olofsson O. D-2-Hydroxyglutaric aciduria with cerebral, vascular, and muscular abnormalities in a 14 year old boy. *J Child Neurol* 2000; 15:488-492
 7. Rashed M, Ozand PT, al Aqeel A, Gascon GG. Experience of King Faisal Specialist Hospital and Research Center with Saudi organic acid disorders. *Brain Dev* 1994 Nov; 16 Suppl: 1-6.
 8. Rashed MS, Al Amoudi M, Aboul-Enein HY. Chiral liquid chromatography-tandem mass spectrometry in the determination of the configuration of 2-hydroxyglutaric acid in urine. *Biomed Chromatogr* 2000; 14(5): 317-320.
 9. Struys EA, Jansen EEW, Verhoeven NM, Jakobs C. Measurement of urinary D- and L-2-hydroxyglutarate enantiomers by stable-isotope-dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry after derivatization with diacetyl-L-tartaric anhydride. *Clin Chem* 2004; 50:8 1391-1394.
 10. Achouri Y, Noel G, Vertommen D, Rider MH, Veiga-da-Cunha M, van Schaftingen E. Identification of a dehydrogenase acting on D-2-hydroxyglutarate. *Biochem J* 2004; 3 1:35-42.
 11. Struys EA, Salomons GS, Achouri Y, Van Schaftingen E, Grosso S, Craigen WJ, Verhoeven NM, Jakobs C. Mutations in the D-2-hydroxyglutarate dehydrogenase gene cause D-2-hydroxyglutaric aciduria. *Am J Hum Genet.* 2005; 76:358-360.
 12. Struys EA. D-2-Hydroxyglutaric aciduria: Unravelling the biochemical pathway and the genetic defect. *J Inherit Metab Dis* 2006; 29:21-29.
 13. da Silva CG, Ribeiro CAJ, Leipnitz G, Dutra-Filho CS, Wyse AT, Wannmacher CM, Sarkis JJ, Jakobs C, Wajner M. Inhibition of cytochrome c oxidase in rat cerebral cortex and human skeletal muscle by D-2-hydroxyglutaric acid in vitro. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1586:81-91.
 14. da Silva CG, Bueno AR, Schuck PF, Leipnitz G, Ribeiro CA, Wannmacher CM, Wyse AT, Wajner M. D-2-hydroxyglutaric inhibit creatine kinase activity from cardiac and skeletal muscle of young rats. *Eur J Clin Invest* 2003; 33(10):840-847.
 15. da Silva CG, Bueno AR, Schuck PF, Leipnitz G, Ribeiro CA, Rosa RB, Dutra Filho CS, Wyse AT, Wannmacher CM, Wajner M. Inhibition of creatine kinase activity from rat cerebral cortex by D-2-hydroxyglutaric acid in vitro. *Neurochem Int* 2004; 44(1):45-52.