

# Síndrome de hiperinsulinismo-hiperamoniemia por mutación *de novo* en el exón 7 (G979A) del gen *GLUD-1*, con excelente respuesta a diazóxido

C. Montero Luis, J. Pozo Román, M.<sup>a</sup>T. Muñoz Calvo, G. Martos Moreno, M.<sup>a</sup>A. Donoso, O. Rubio Cabezas y J. Argente Oliver

Servicio de Endocrinología Pediátrica. Departamento de Pediatría. Hospital Infantil Universitario Niño Jesús. Madrid. España.

El síndrome de hiperinsulinismo-hiperamoniemia se caracteriza por hipoglucemias sintomáticas recurrentes en la infancia, secundarias a hiperinsulinismo, asociadas a un moderado y asintomático incremento de la amoniemia. Es debido a mutaciones en el gen de la glutamato deshidrogenasa (10q23.3), transmitidas de forma dominante, que alteran el control de la actividad enzimática y representa la segunda causa de hiperinsulinismo congénito de base conocida, siendo la primera enfermedad genética identificada debida a un aumento de la actividad de una enzima del metabolismo intermediario. Presentamos el caso de un niño de 16 meses con hipoglucemias sintomáticas recurrentes desde el final del primer año de vida, debidas a una mutación activadora *de novo* en el exón 7 (G979A) del gen de la GDH, con excelente respuesta terapéutica a diazóxido.

## Palabras clave

*Hipoglucemia. Hiperinsulinismo. Hiperamoniemia. Glutamato deshidrogenasa.*

## HYPERINSULINISM-HYPERAMMONEMIA SYNDROME DUE TO A *DE NOVO* MUTATION IN EXON 7 (G979A) OF THE GLUTAMATE DEHYDROGENASE GENE WITH EXCELLENT RESPONSE TO DIAZOXIDE

**Hyperinsulinism-hyperammonemia syndrome is characterized by recurrent and symptomatic hypoglycemia in childhood, secondary to hyperinsulinism associated with mild and asymptomatic hyperammonemia. This syndrome is caused by dominantly expressed mutations of the glutamate dehydrogenase gene (10q23.3). These muta-**

**tions modify control of enzyme activity and represent the second cause of congenital hyperinsulinism of known genetic etiology. Moreover, this syndrome is the first genetic disorder due to an increase of function in an enzyme of intermediary metabolism to have been identified. We present the case of a 16-month-old boy with symptomatic recurrent hypoglycemia from the end of the first year of life, caused by a *de novo* mutation in exon 7 (G979A) of the GDH gene, with excellent outcome after diazoxide treatment.**

## Key words:

*Hypoglycemia. Hyperinsulinism. Hyperammonemia. Glutamate dehydrogenase.*

## INTRODUCCIÓN

El hiperinsulinismo congénito (HIC) es la causa más frecuente de hipoglucemias recurrentes en la infancia<sup>1</sup>. Su incidencia en la población general es escasa (1:25.000-50.000), aunque en determinadas áreas con alta consanguinidad es mayor (1:3.000)<sup>2</sup>. En la mayoría de los casos, el HIC se debe a alteraciones genéticas implicadas en la regulación de la secreción de insulina<sup>2,3</sup>. Recientemente se ha descrito una forma de HIC asociada a hiperamoniemia (síndrome de hiperinsulinismo-hiperamoniemia [HI-HA]) debida a mutaciones activadoras en el gen *GLUD-1* de la glutamato deshidrogenasa (GDH), una enzima implicada en la respuesta de insulina mediada por aminoácidos, y cuyo aumento de actividad determina la hipersecreción de insulina por la célula  $\beta$  y un incremento del amonio de origen hepático<sup>4</sup>.

**Correspondencia:** Dr. J. Pozo Román.  
Servicio de Endocrinología Pediátrica. Hospital Infantil Universitario Niño Jesús.  
Avda. Menéndez Pelayo, 65. 28009 Madrid. España.  
Correo electrónico: jpozor@wanadoo.es

Recibido en diciembre de 2003.  
Aceptado para su publicación en julio de 2004.

**TABLA 1. Resultados analíticos**

Glucemia capilar (mg/dl)	Glucemia venosa (mg/dl)	Amonio (µmol/l)	Cuerpos cetónicos	Triglicéridos (mg/dl)	Insulina (µU/l)
45 (2,7 mmol/l)	67 (4,0 mmol/l)	114	Negativos	707	35
38 (2,3 mmol/l)	45 (2,7 mmol/l)	147	Negativos	206	16,9

Valores normales (VN) de glucemia venosa: 60-100 mg/dl (3,6-6,0 mmol/l); VN de amonio: 10-40 µmol/l; VN de triglicéridos: 35-135 mg/dl; VN de insulina: 4-11 µU/l.

**TABLA 2. Criterios diagnósticos del hiperinsulinismo**

Necesidades de glucosa > 6-8 mg/kg/min para mantener cifras de glucemia > 2,6-3 mmol/l
Glucemia en plasma < 2,6 mmol/l
Niveles de insulina elevados en condiciones de hipoglucemia
Niveles elevados de péptido C
Ácidos grasos libres y cuerpos cetónicos en plasma bajos
Respuesta positiva a la estimulación con glucagón en hipoglucemia
Ausencia de cuerpos cetónicos en sangre y orina

**OBSERVACIÓN CLÍNICA**

Varón de 16 meses de edad, que desde los 12 meses de edad presentó tres episodios de convulsión tónico-clónica generalizada, sin relación con fiebre u otra causa desencadenante, en la última de las cuales se había detectado hipoglucemia (glucemia capilar: 27 mg/dl). Los padres no habían notado otra sintomatología que sugiriera hipoglucemia.

Nacido tras embarazo normal y parto a término, eutócico (test de Apgar de 8/9), con peso y longitud al nacimiento de 3.500 g y 50 cm, respectivamente. El desarrollo psicomotor había sido normal y no referían otros antecedentes personales de interés. Ambos progenitores eran jóvenes y sanos, no consanguíneos, sin antecedentes de abortos o muerte de neonatos, y el paciente tenía un hermano sano de 4 años. La exploración física era normal, con un peso de 10,9 kg (P<sub>75-90</sub>) y una longitud de 81,5 cm (P<sub>25-50</sub>).

El perfil glucémico realizado durante 48 h confirmó la tendencia a presentar cifras de glucemia en el rango bajo de la normalidad (60-70 mg/dl), con hipoglucemias leves esporádicas (40-45 mg/dl), preferentemente posprandiales y con escasa sintomatología acompañante (decaimiento, palidez). El control de la glucemia precisó inicialmente aportes de glucosa intravenosa de hasta 8 mg/kg/min. Tras su estabilización, se inició alimentación oral, con dieta fraccionada cada 4 h, junto con nutrición enteral nocturna a débito continuo, pese a lo cual continuó presentando episodios de hipoglucemia, por lo que se instauró nutrición enteral continua con aportes elevados de hidratos de carbono, y se consiguió que las cifras de glucemia se normalizaran.

Las determinaciones analíticas realizadas, en el momento de presentar hipoglucemia, en sangre (insulina,

péptido C, amonio, ácido láctico y pirúvico, hormona de crecimiento, cortisol, cuerpos cetónicos, ácidos grasos libres, alanina, aminoácidos, carnitina y acilcarnitina) y orina (cuerpos cetónicos y ácidos orgánicos en orina de 24 h) fueron normales, salvo la presencia de HI e HA (tabla 1).

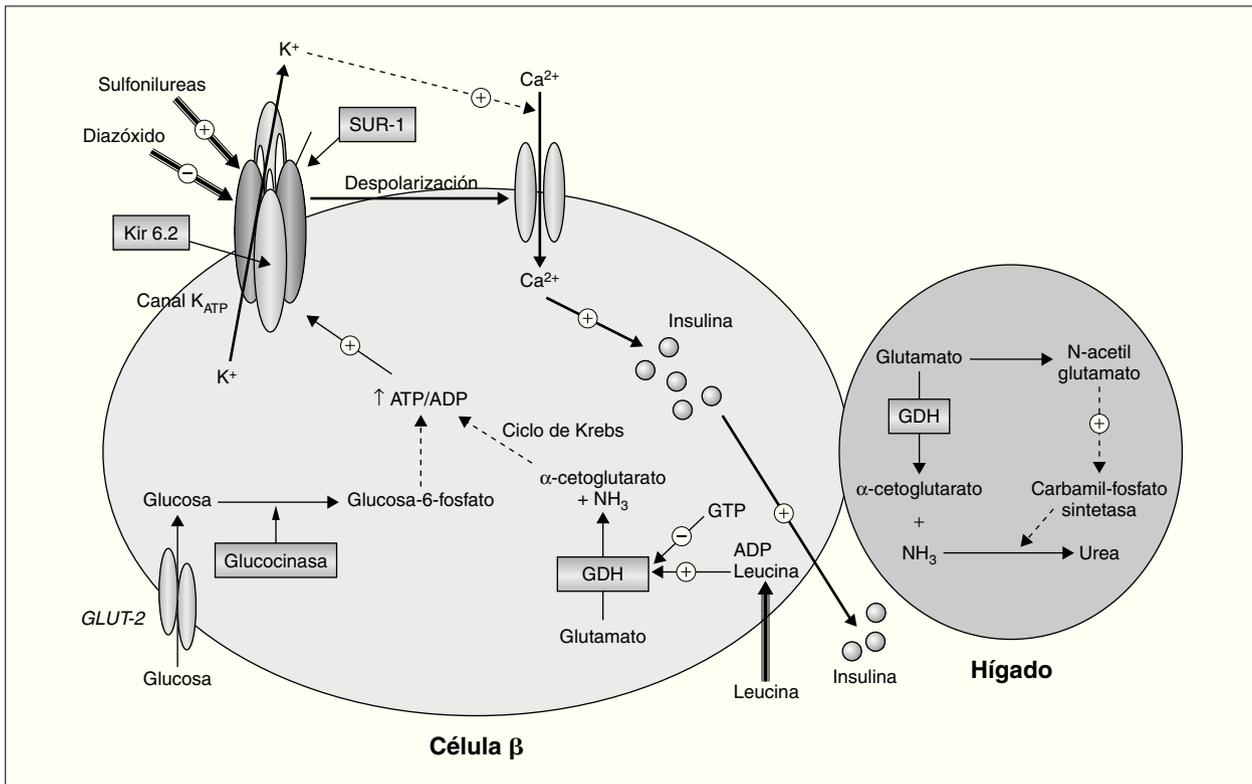
Confirmada la existencia de hiperinsulinismo (tabla 2), se inició el tratamiento con diazóxido oral (13,6 mg/kg por día, cada 8 h). Se observó una respuesta clínica positiva a las 48 h de iniciado el tratamiento, lo que permitió la retirada progresiva de los aportes intravenosos de glucosa, así como de la alimentación enteral y el paso a la alimentación fraccionada con posterior descanso nocturno. La dosis de diazóxido se redujo progresivamente hasta 8 mg/kg/día, que es la que continúa recibiendo en la actualidad. Tras un año y medio de seguimiento, el paciente no ha presentado efectos adversos atribuibles al tratamiento, y sigue una evolución satisfactoria de su desarrollo ponderoestatural, sin presentar episodios de hipoglucemia en los controles realizados de glucemia capilar.

El estudio molecular demostró que el paciente era heterocigoto para una mutación presuntamente *de novo* en el exón 7 del gen *GLUD-1* (G979A), ya que los padres y la hermana fueron negativos para esta mutación.

**DISCUSIÓN**

El HIC es una entidad clínica, histológica y genética heterogénea. Estudios recientes han demostrado que la mayoría de los casos de HIC se deben a alteraciones genéticas en la regulación de la secreción de insulina, lo cual explica la gran variabilidad en cuanto a su presentación clínica y respuesta al tratamiento; sin embargo, hasta en un 50% de los casos de HIC no se llega a identificar la alteración genética.

El control de la secreción de insulina por las células β del páncreas en respuesta a la estimulación con glucosa no se conoce totalmente (fig. 1); no obstante, en los principales mecanismos implicados intervienen mecanismos bioquímicos y eléctricos<sup>5,6</sup>. Se han descrito mutaciones en cuatro genes diferentes implicados en el control de la secreción de insulina y responsables de cuadros clínicos de HIC<sup>2,3</sup>. La mayoría de los casos se deben a mutaciones en los genes que codifican para las dos subunidades que componen los canales de K<sub>ATP</sub>, SUR-1 (receptor de la sulfonilurea) y Kir 6.2 (ambos en 11p15.1), y salvo una mutación del SUR-1 descrita en Finlandia y heredada de



**Figura 1.** Regulación de la insulinosécréción en el hígado y de la ureogénesis hepática por la GDH. Cuando la glucemia aumenta, la glucosa entra en la célula a través de un transportador específico (GLUT-2), donde se fosforila (glucocinasa) a glucosa-6-fosfato, y subsecuentemente metabolizada, lo que incrementa la producción de ATP. El incremento del cociente ATP/ADP determina secuencialmente: el cierre de los canales de K<sup>+</sup> dependientes de ATP (K<sub>ATP</sub>), la despolarización de la membrana celular y la apertura de los canales de Ca<sup>2+</sup> voltaje-dependientes. El incremento intracelular de Ca<sup>2+</sup> libre en la célula β activa los mecanismos de secreción de insulina.

forma dominante<sup>7</sup>, todas ellas se heredan de forma autosómica recesiva y producen una inactivación total o parcial de los canales K<sub>ATP</sub>. El gen de la glucocinasa (7p15-p13) también está implicado en el HIC<sup>8</sup>; no obstante, sólo se han descrito 5 casos en una única familia, a lo largo de tres generaciones (autosómico dominante). El último gen implicado en los HIC y responsable del síndrome de HI-HA es el *GLUD-1*, que codifica la enzima de la matriz mitocondrial, GDH, localizado en el cromosoma 10q23.3<sup>4</sup>.

Los primeros casos de asociación de HI y moderada HA fueron descritos en 1996<sup>9,10</sup>. De los 3 pacientes descritos, dos eran esporádicos y el tercero era un niño cuya madre también estaba afectada, indicando una transmisión dominante, y que había mostrado una exagerada respuesta de insulina a la infusión con leucina. Este concepto de “hipoglucemia leucín-sensible” había sido descrito por Cochrane et al<sup>11</sup> a mediados de los años cincuenta, aunque fueron Grumbach y Kaplan<sup>12</sup> quienes demostraron su asociación con el HI, y con ello el papel de la leucina y de otros aminoácidos en la regulación de la secreción de insulina. El reconocimiento reciente del síndrome de HI-HA ha renovado el interés por el viejo concepto de “hipoglucemia leucín-sensible”.

Los mecanismos fisiopatológicos que median la hipersecreción de insulina y la HA en el síndrome de HI-HA no son plenamente conocidos (fig. 1). La GDH es una enzima que media la reacción reversible, en la matriz mitocondrial, de glutamato a α-cetoglutarato (glutamato + NAD ⇌ α-cetoglutarato + NH<sub>3</sub> + NADH) y es regulada por efectores alostéricos positivos (adenosintrifosfato [ADP] y leucina) y negativos (guanosintrifosfato [GTP])<sup>13</sup>. En el síndrome de HI-HA<sup>4</sup>, las mutaciones en *GLUD-1* incrementarían la actividad enzimática de la GDH al interferir el efecto inhibitorio del GTP, aumentando la producción de α-cetoglutarato, que entraría al ciclo de Krebs incrementando la producción de adenosintrifosfato (ATP). El aumento del cociente ATP/ADP sería el responsable del aumento de liberación de insulina. En el hígado, el incremento de actividad de la GDH no sólo aumentaría la producción neta de amonio, sino que, al reducir las concentraciones de glutamato, reduciría también las de su derivado, el N-acetilglutamato, que es un activador alostérico de la carbamil-fosfato-sintetasa, la enzima limitante del ciclo de la urea; por consiguiente, la HA en el síndrome de HI-HA sería debida no sólo a un incremento de la amoniogénesis, sino también a una alteración de la síntesis de urea.

La GDH es un hexámero de seis subunidades idénticas<sup>13</sup>, cada una de ellas formada por tres dominios: el de unión al glutamato (extremo N terminal), el de unión al NAD y el llamado "dominio de la antena". La zona de unión al GTP se situaría entre el dominio de unión al NAD y la antena. Presumiblemente, en los pacientes con síndrome de HI-HA, la GDH sería una mezcla de heterohexámeros que contendrían, de media, igual número de subunidades mutantes y normales<sup>4</sup>. Las mutaciones inicialmente descritas, y las más frecuentes, se localizan en el dominio de la antena (exones 11 y 12)<sup>14</sup>, por lo que se presume que, a través de cambios conformacionales que facilitarían o dificultarían la fijación del GTP, éste tendría un importante papel en la regulación alostérica de la enzima. Posteriormente se ha descrito una única mutación en el exón 10<sup>15</sup> y otra zona de mutaciones, relativamente frecuentes, en los exones 6 y 7<sup>16</sup>. Nuestro paciente presentaba una mutación en el exón 7 y estudios de la estructura de la GDH han demostrado que ambos exones, 6 y 7, codifican para una de las dos zonas de unión al GTP, probablemente la principal zona implicada en la inhibición alostérica de la enzima<sup>13,17</sup>.

Las manifestaciones clínicas del síndrome de HI-HA parecen ser similares en la mayoría de los casos, independientemente de la localización de la mutación<sup>4,14,16</sup>. En los 19 casos de síndrome de HI-HA debidos a mutaciones en los exones 6 y 7, descritos por MacMullen et al<sup>16</sup>, la sintomatología fue similar a la de nuestro paciente. El peso y la talla al nacimiento fueron normales, y las manifestaciones clínicas, en forma de hipoglucemia sintomática moderada, se pusieron de manifiesto alrededor de los 11 meses de edad (rango: entre el período neonatal y los 2 años). Sólo un 50% de los pacientes presentaron retraso psicomotor relacionado con los episodios recurrentes de hipoglucemia. Ninguno de los pacientes presentaba signos clínicos de HA, como letargia o coma, y los niveles séricos de amonio oscilaron entre 49 y 150  $\mu\text{mol/l}$ ; es decir, en algunos casos estaban muy próximos a la normalidad, por lo que es posible que puedan describirse casos de HIC debidos a mutaciones de la GDH con amoniemias dentro del rango normal<sup>16</sup>. En cualquier caso, parece existir una correlación genotipo-fenotipo positiva entre los niveles séricos de amonio y la sensibilidad a la inhibición con GTP, lo que no parece ocurrir con la gravedad de la hipoglucemia; de forma que las mutaciones que afectan leve-moderadamente a la inhibición de la actividad enzimática por GTP generan tanta hipoglucemia como las más graves<sup>16</sup>.

El diazóxido es el medicamento que más se utiliza en el tratamiento de los HIC<sup>18</sup>, y actúa impidiendo el cierre de los canales de  $K_{\text{ATP}}$ , lo que dificulta la despolarización de la célula  $\beta$  y la liberación de insulina. Nuestro paciente presentó una excelente respuesta clínica al tratamiento con diazóxido; de forma que su glucemia se normalizó a las 48 h y no ha vuelto a experimentar nuevos episodios

de hipoglucemia ni tampoco efectos secundarios atribuibles al fármaco (edemas, hipertensión, hipertricosis, trombocitopenia, etc.). En cualquier caso, no todos los pacientes con síndrome de HI-HA responden al diazóxido, y las formas más leves pueden ser tratadas únicamente con una dieta baja en proteínas y con aportes elevados de hidratos de carbono<sup>16</sup>.

En resumen, el síndrome de HI-HA es, en frecuencia, la segunda causa genética conocida de HIC. Provoca cuadros clínicos de hipoglucemia, que al contrario que los debidos a una alteración en los canales de  $K_{\text{ATP}}$ , suelen ser menos graves, de inicio más tardío y con una respuesta variable al diazóxido. La asociación de hipoglucemia y niveles moderadamente elevados de amonio debe hacer sospechar su existencia, que debe ser confirmada mediante estudios moleculares. El interés de este caso clínico radica en dos hechos: primero, la demostración de una mutación en el gen *GLUD-1*, y segundo, la excelente respuesta terapéutica al diazóxido.

### Agradecimientos

Al Dr. Benjamin Glasser del Departamento de Endocrinología y Metabolismo del Hospital Universitario Hadassah, Jerusalén, por la realización del estudio molecular.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Stanley CA. Hyperinsulinism in infants and children. *Pediatr Clin North Am* 1997;44:363-3.
2. Glaser B, Thornton P, Otonkoski T, Junien C. Genetics of neonatal hyperinsulinism. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2000;82:F79-F86.
3. Fournet JC, Junien C. The genetics of neonatal hyperinsulinism. *Horm Res* 2003;59(Suppl 1):30-4.
4. Stanley Ca, Lieu YK, Hsu BYL, Burlina AB, Greenberg CR, Hopwood NJ, et al. Hyperinsulinism and hyperammonemia in infants with regulatory mutations of the glutamate dehydrogenase gene. *N Engl J Med* 1998;338:1352-7.
5. Sheperd RM, Cosgrove KE, O'Brien RE, Barnes PD, Ämmälä C, Dunne MJ. Hyperinsulinism of infancy: Towards an understanding of unregulated insulin release. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2000;82:F87-F97.
6. Dunne MJ. Ions, genes and insulin release: From basic science to clinical disease. *Diabet Med* 2000;17:91-104.
7. Huopio H, Reimann F, Ashfield R, Komulainen J, Lenko HL, Rahier J, et al. Dominantly inherited hyperinsulinism caused by a mutation in the sulfonylurea receptor type 1. *Clin Invest* 2000;106:897-906.
8. Glasser B, Kesavan P, Heyman M, Davis E, Cuesta A, Buchs A, et al. Familial hyperinsulinism caused by an activating glucokinase mutation. *N Engl J Med* 1998;338:226-30.
9. Zammarchi E, Filippi L, Novembre E, Donati MA. Biochemical evaluation of a patient with a familial form of leucine-sensitive hypoglycemia and concomitant hyperammonemia. *Metabolism* 1996;45:957-60.
10. Weinzimer SA, Stanley CA, Berry GT, Yudkoff M, Tuchman M, Thornton PS. A syndrome of congenital hyperinsulinism and hyperammonemia. *J Pediatr* 1997;130:661-4.

11. Cochrane WA, Payne WW, Simpkins MJ, Woolf LI. Familial hypoglycemia precipitated by amino acids. *J Clin Invest* 1955;35:411-22.
12. Grumbach MM, Kaplan SL. Amino acid and alpha-keto acid induced hyperinsulinism in the leucine sensitive type of infantile and childhood hypoglycemia. *J Pediatr* 1960;57:346-62.
13. Smith TJ, Schmidt T, Fang J, Wu J, Siuzdak G, Stanley CA. The structure of apo human glutamate dehydrogenase details subunit communication and allostery. *Mol Biol* 2002;318:765-77.
14. Stanley CA, Fang J, Kutyna K, Hsu BY, Ming JE, Glaser B, et al. Molecular basis and characterization of the hyperinsulinism/hyperammonemia syndrome: Predominance of mutations in exons 11 and 12 of the glutamate dehydrogenase gene. *Diabetes* 2000;49:667-73.
15. Yorifuji T, Muroi J, Uematsu A, Hiramatsu H, Momoi T. Hyperinsulinism-hyperammonemia syndrome caused by mutant glutamate dehydrogenase accompanied by novel enzyme kinetics. *Hum Genet* 1999;104:476-9.
16. MacMullen C, Fang J, Hsu BYL, Kelly A, De Lonlay-Debeney P, Saudubray JM, et al. Hyperinsulinism/hyperammonemia syndrome in children with regulatory mutations in the inhibitory guanosine triphosphate binding domain of glutamate dehydrogenase. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1782-7.
17. Peterson PE, Smith TJ. The structure of bovine glutamate dehydrogenase provides insights into the mechanism of allostery. *Structure Fold Des* 1999;7:769-82.
18. Aynsley-Green A, Hussain K, Hall J, Saudubray JM, Nihoul-Fékété C, de Lonlay-Debeney P, et al. Practical management of hyperinsulinism in infancy. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2000;82:F98-F107.