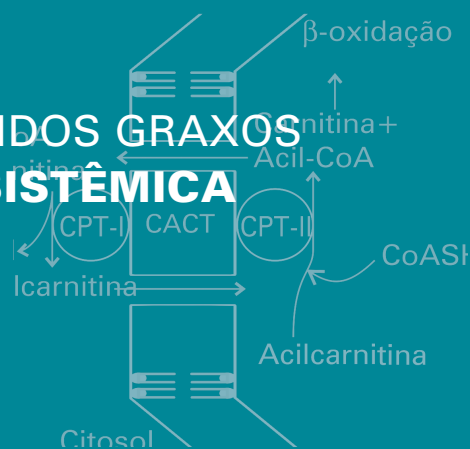


A OXIDAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS NA DEFICIÊNCIA SISTÊMICA DA CARNITINA



Caso clínico

Uma mulher de 24 anos de idade era investigada pela Clínica Mayo há 5 anos. Ela apresentava fraqueza muscular moderada desde tenra idade que se tornou progressivamente pior nos últimos cinco anos. Biópsias de músculos esqueléticos revelaram uma miopatia vacuolar e estudos de histoquímica indicavam gotículas de lipídios (coloridas pelo corante Sudan), preenchendo os espaços citoplasmáticos anormais entre as fibras musculares.

Durante a última internação, foi realizado um teste clínico-laboratorial de jejum por várias horas. No início, a glicose sanguínea estava em 90mg/dL, mas 24 horas após havia caído a 60mg/dL e às 35 horas estava em 40mg/dL, quando o jejum foi interrompido com a administração de glicose. Durante o teste, os níveis de ácidos graxos livres se elevaram de 0,1 a 1,8mEq/L. Entretanto, as concentrações de acetoacetato e β-hidroxibutirato não aumentaram. A concentração da carnitina sérica (antes do jejum) era de 4μmol/L, enquanto os valores normais se situavam entre 25 e 50μmol/L. Dosagens de carnitina nos fragmentos dos tecidos colhidos por biópsias revelaram baixos níveis de carnitina (**Quadro 11.1**).

A paciente recebeu uma dieta rica de carboidratos e pobre em lipídios e foi tratada com a suplementação oral de L-carnitina (2g/dia). Depois de 4 meses desse tratamento, a paciente melhorou seus sintomas e seu quadro laboratorial (ver **Quadro 11.1**).

Quadro 11.1. Níveis de carnitina no músculo, fígado, soro e urina da paciente.

Origem	Controle	Paciente antes da terapia	Após 4 meses
Carnitina muscular (mmol/kg)	2,5	0,02	0,2
Carnitina hepática (mmol/kg)	0,9	0,04	0,5
Carnitina sérica (μmol/L)	33	4,0	18,5
Carnitina urinária (μmol/24 horas)	100	40	1.500

Fundamentação bioquímica

A história desse caso clínico contém elementos retirados da primeira paciente que foi diagnosticada como tendo a síndrome da deficiência sistêmica de carnitina (Engel e Angelini, 1973), complementados com os de outro paciente com a mesma doença (Brass et al., 2007), para atualizar a discussão do que se sabe atualmente dessa enfermidade. Para entendermos as bases bioquímicas subjacentes ao caso, é necessário inicialmente revermos os conceitos do **transporte dos ácidos graxos e da carnitina, a via da β-oxidação dos ácidos graxos e a formação dos corpos cetônicos** (Nelson e Cox, 2008; Rosenthal e Glew, 2009).

Transporte dos ácidos graxos e da carnitina nos tecidos

Pelo fato de serem impermeáveis às membranas celulares (tanto a plasmática quanto a membrana externa da mitocôndria), os ácidos graxos de cadeia longa necessitam de um sistema de transporte especial (Rosenthal e Glew, 2009). A **Fig. 11.1** esquematiza as diferentes etapas desse processo. Inicialmente, os ácidos graxos da corrente sanguínea, ligados à molécula da albumina, são captados e transportados para o interior da célula por um de três sistemas de transportadores específicos (**FATP**, **FAT/CD36** ou **FABpm**), existentes na membrana plasmática dos principais tecidos envolvidos na oxidação dos ácidos graxos: músculos, coração, tecido adiposo e intestino. Adentrando no citoplasma celular, os ácidos graxos são primeiro ativados pela enzima *acil-CoA sintetase* formando os **acil-CoA**. Esses grupos acilas em seguida são transferidos para a molécula da carnitina através da enzima *carnitina palmitoil transferase-I*, **CPT-I**, localizada na membrana externa da mitocôndria. As **acilcarnitinas** são então transportadas para

DEFICIÊNCIA SISTÊMICA DA CARNITINA

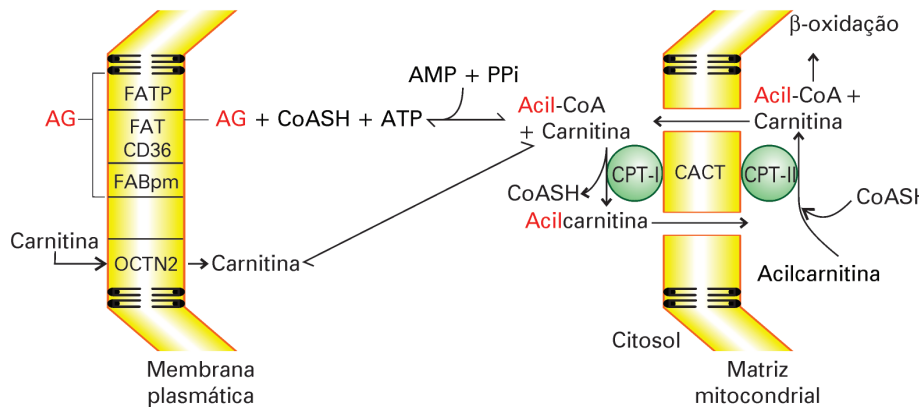


Figura 11.1. Transporte dos ácidos graxos de cadeia longa e ciclo da carnitina.

a matriz mitocondrial por uma proteína, a *carnitina-acilcarnitina translocase*, *CACT*, situada na membrana interna da mitocôndria. Finalmente, no interior da mitocôndria, as acilcarnitinas sofrem a ação da *carnitina palmitoil transferase-II*, *CPT-II* regenerando as **acil-CoA** (agora dentro da matriz mitocondrial) e liberando a **carnitina**, que retornará ao citoplasma, transportada pela *CACT*. As **acil-CoA** mitocondriais estão então em condições de ser oxidadas através da **via da β-oxidação dos ácidos graxos**, localizada dentro das mitocôndrias.

No mecanismo de transporte dos ácidos graxos, a **carnitina** desempenha um papel extremamente importante. Sem ela não haveria o transporte e muito menos a oxidação dos ácidos graxos de cadeia longa no interior das mitocôndrias. Entretanto, a carnitina também necessita de um **transportador especial (OCTN2)** para adentrar o citoplasma das células renais e dos demais órgãos com altas taxas de β-oxidação (coração, músculo e intestino). Nos rins, 95% da carnitina que seria excretada pela urina é reabsorvida pelo organismo graças a esse transportador.

A carnitina é sintetizada principalmente no fígado e rim a partir de um derivado da **lisina** (**Fig. 11.2**). Além dessa síntese endógena, uma quantidade expressiva de carnitina pode ainda ser obtida por meio da dieta. Independente da sua origem, a carnitina que circula pela corrente sanguínea será captada pelo transportador da carnitina (OCTN2), indo para o citoplasma, onde participará do ciclo da carnitina.

Os ácidos graxos de cadeia curta ou média, ao contrário dos ácidos graxos de cadeia longa, não são impermeáveis às membranas e dispensam, portanto, o sistema de transporte da carnitina para chegarem dentro da mitocôndria. Eles

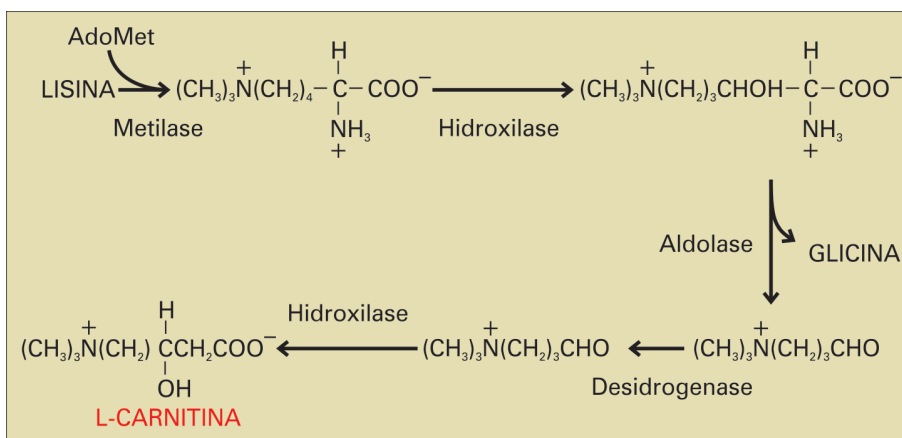


Figura 11.2. Biossíntese da carnitina.

Quadro 11.2. Transporte dos vários tipos de ácidos graxos na mitocôndria.

Tipos	Número de carbonos	Metabolização	Transporte de membrana
Cadeia curta	4-6	Mitocôndria	Difusão
Cadeia média	8-12	Mitocôndria	Difusão
Cadeia longa	14-20	Mitocôndria	Ciclo da carnitina
Cadeia muito longa	> 20	Peroxisomo	Desconhecido

são ativados pela *acil-CoA sintetase* no citoplasma celular e por difusão passiva (Quadro 11.2) chegam à matriz mitocondrial onde podem sofrer a β -oxidação (mesmo na ausência da carnitina).

β -oxidação dos ácidos graxos

A via da β -oxidação dos ácidos graxos tem esse nome pelo fato de as quatro enzimas envolvidas no processo (Fig. 11.3) agirem no terceiro carbono (carbono β) a partir da carbonila (Nelson e Cox, 2008; Rosenthal e Glew, 2009). Ela foi descoberta na década de 1950 pelo bioquímico Feodor Lynen (Prêmio Nobel de Medicina em 1964) e é conhecida também pelo nome de **espiral de Lynen**.

Essas enzimas existem como entidades separadas nas bactérias gram-positivas, mas formam uma entidade polifuncional única (apesar de possuírem quatro centros ativos diferentes) nos mamíferos. Na primeira reação, catalisada por uma

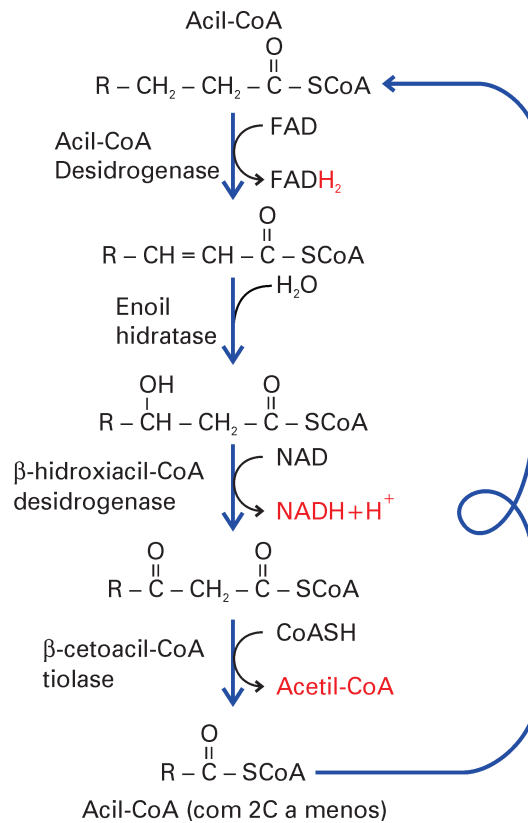


Figura 11.3. Reações da via da β-oxidação dos ácidos graxos.

desidrogenase ligada ao FAD, dois hidrogênios são retirados entre os carbonos α e β formando uma dupla ligação e transportando os hidrogênios na forma de **FADH₂**. Na segunda, há *hidratação* da dupla com a introdução da hidroxila no carbono β. Na terceira, uma nova *desidrogenação* retira os hidrogênios para o **NADH + H⁺** e, finalmente, na quarta reação a molécula cinde-se liberando **acetil-CoA** e formando um acil-CoA com dois carbonos a menos. Esse acil-CoA continua uma nova espiral da via até chegar na última volta, onde o acetoacetyl-CoA se cinde em duas moléculas de acetil-CoA.

Em cada volta da espiral, forma-se uma molécula de cada uma das substâncias: **FADH₂**, **NADH + H⁺** e **acetil-CoA**. Cada uma delas é capaz de formar nas mitocôndrias, respectivamente, **2**, **3** e **12** ATPs. A oxidação do ácido palmítico (de 18 átomos de carbono), realizando 7 voltas, produz **7FADH** e **7NADH + 7H⁺** e **8 acetil-CoA**, perfazendo no total **131** moléculas de ATP ($7 \times 2 + 7 \times 3 + 8 \times 12$). Uma produção muito maior que a obtida na oxidação completa da glicose.

Sessenta a 90% dos ATPs produzidos na fibra muscular cardíaca são provenientes da oxidação dos ácidos graxos através dessa via enzimática. Também as células musculares estriadas preferem a oxidação dos ácidos graxos a qualquer outro nutriente. Apenas as hemácias (que não possuem mitocôndrias) e o tecido nervoso (devido à barreira hematoencefálica) não oxidam os ácidos graxos.

Entre as refeições (e no jejum prolongado) os ácidos graxos provenientes dos depósitos do tecido adiposo chegam ao fígado para serem oxidados. Essa etapa do metabolismo é extremamente importante para se obter os ATPs necessários para a **gliconeogênese** e a **síntese da ureia**.

Formação e utilização dos corpos cetônicos

A oxidação dos ácidos graxos no fígado acumula grandes quantidades de acetil-CoA. Parte desses acetil-CoA será desviada para a síntese de **corpos cetônicos**, de acordo com as reações descritas na **Fig. 11.4**.

Os corpos cetônicos, após sua síntese no fígado, são lançados na circulação onde irão funcionar como uma das principais fontes energéticas durante o jejum. Nos tecidos periféricos (incluindo o cérebro), eles se transformam em acetil-CoA (pela reversão de parte das reações descritas na **Fig. 11.4**) e serão oxidados no ciclo de Krebs.

Lesões moleculares que levam à síndrome da deficiência da carnitina

Mutações que afetem qualquer um dos genes das proteínas, como **OCTN2**, **CPT-I**, **CACT** e **CPT-II**, poderão prejudicar o ciclo celular da carnitina e atrapalhar o transporte dos ácidos graxos de cadeia longa (Longo et al., 2006; Roe e Dong, 2001).

As mutações que afetam **OCTN2** apresentam incidência de 1 em cada 40.000 nascimentos no Japão e provavelmente também nos Estados Unidos e Europa (Koizumi et al., 1999) e levam a uma doença conhecida como **deficiência da carnitina sistêmica ou primária**. Estando com um defeito nessa proteína (Wang et al., 1999), as células tubulares renais deixam de captar a carnitina presente no filtrado renal, permitindo que ela seja excretada na urina. Em consequência, os níveis circulantes de carnitina caem rapidamente, o que dificulta mais ainda o acúmulo intracelular dessa molécula nos músculos, coração, intestino e fígado que também estão afetados. Nessas condições, a oxidação dos ácidos graxos de

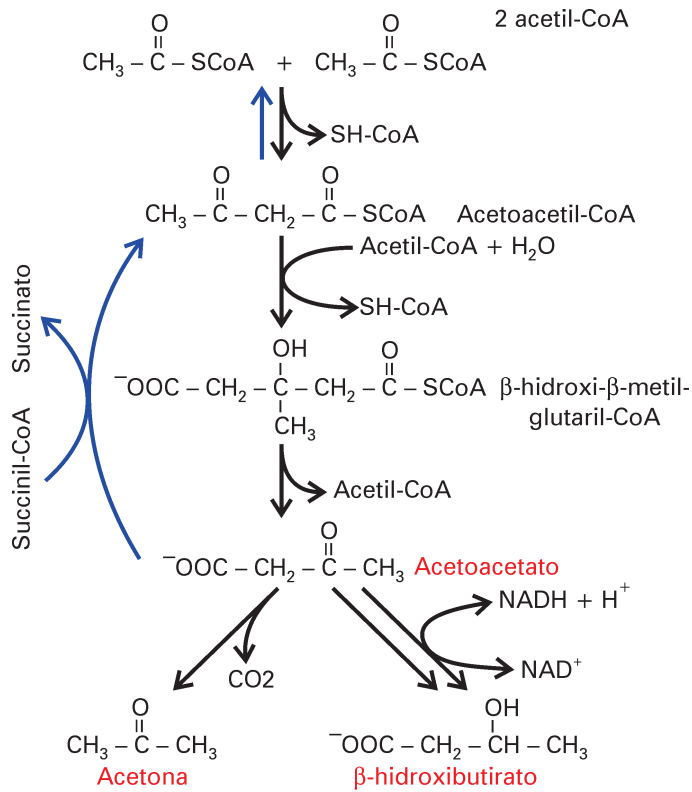


Figura 11.4. Formação (e utilização) dos corpos cetônicos.

cadeia longa no interior das mitocôndrias fica prejudicada pela impossibilidade de se formarem as moléculas efetivas no transporte dos ácidos graxos de cadeia longa, as **acilcarnitinas**. As acil-CoA acumuladas no interior do citoplasma acabam sendo depositadas em gotículas de triacilglicerol entre as fibras musculares (Bruno e DiMauro, 2008), o que explica os sintomas de fraqueza muscular nesses pacientes. Esses indivíduos, quando submetidos a um jejum prolongado (como o descrito no teste clínico-laboratorial realizado com a paciente), não podendo produzir ATPs através da β -oxidação, deixam de ajudar o organismo a economizar glicose durante o jejum, o que leva a episódios de: (a) **hipoglicemia**, pelo consumo forçado de glicose; (b) **hiperamônemia**, por não haver ATP suficiente para realizar o ciclo da ureia; (c) **falta de corpos cetônicos** para alimentar o cérebro. Em casos mais graves essas condições podem levar ao coma, ocasionalmente observado em algumas crianças.

As outras três formas de deficiências no ciclo da carnitina (**CPT-I**, **CACT** e **CPT-II**) também levam à não oxidação dos ácidos graxos de cadeia longa e podem levar aos mesmos sintomas das mutações que afetam a **OCTN2**: a hipoglicemia e a hiperamônia com baixos níveis de corpos cetônicos no sangue, mas não diminuem os níveis de carnitina no sangue (Bonfont et al., 2004; Rubio-Gozalbo et al., 2004).

Diagnóstico

O diagnóstico laboratorial dessas síndromes começa com a determinação dos valores de **carnitina**, **corpos cetônicos**, **ácidos graxos** e **glicose** durante o teste de jejum realizado pela paciente deste caso clínico. Em alguns centros especializados, podem ser realizados ensaios mais sofisticados envolvendo a captação de carnitina por fibroblastos dos pacientes, cultivados em cultura e, também, a análise de espectrometria de massa dos acil-CoA e acilcarnitinas sanguíneos. Com isso, podem ser facilmente diferenciados os quatro tipos acima mencionados de deficiência de carnitina. Na prática, entretanto, esses exames sofisticados podem ser dispensados.

Tratamento

A base racional para a terapêutica da deficiência de carnitina está fundamentada em duas atitudes: **diminuir a dependência da oxidação de ácidos graxos de cadeia longa e suplementar a dieta da paciente com carnitina**. Para alcançar esses objetivos, recomenda-se que a paciente tenha refeições mais frequentes (evitando jejuns prolongados) e que estas sejam ricas em carboidratos e de baixo conteúdo de gorduras (especialmente aquelas que têm ácidos graxos de cadeia longa). Por outro lado, como os triglicerídios ricos em ácidos graxos de cadeia média ou pequena (óleo de coco e azeite de dendê) **não necessitam de carnitina para chegarem até o interior das mitocôndrias**, eles devem ser preferencialmente recomendados na dieta. Finalmente, a administração de altas doses de carnitina é indicada principalmente nos casos das mutações em **OCTN2** (apesar de terem também algum efeito nas outras patogenias). Como pode ser observado no **Quadro 11.1**, embora grande parte da carnitina administrada seja inevitavelmente eliminada na urina, ela acaba permitindo uma boa recuperação dos seus níveis intracelulares, o que melhora a taxa de oxidação dos ácidos graxos de cadeia longa e em consequência os sintomas da doença.

Questões

- 1 Quais são as razões para o acúmulo intracelular de lipídios no fígado e músculos dessa paciente?
- 2 Explique a diminuição da oxidação dos ácidos graxos de cadeia longa nessa paciente.
- 3 Por que a paciente foi incapaz de produzir corpos cetônicos durante a realização do teste de jejum?
- 4 Você esperaria que a oxidação do piruvato (proveniente da glicose) poderia também estar prejudicada nessa paciente? Por quê?
- 5 Qual é a causa da hipoglicemia ocasionalmente observada nesses pacientes?
- 6 Por que o conteúdo da carnitina do músculo esquelético permanece abaixo dos níveis normais a despeito das altas doses de carnitina usadas na terapêutica desse paciente?
- 7 Qual a base terapêutica para a recomendação dietética de trocar os ácidos graxos de cadeia longa pelos de cadeia menor?

Bibliografia

- Bonnefont JP, Djouadi F, Prip-Buus C, Gobin S, Munnich A, Bastin J. Carnitine palmitoyltransferases 1 and 2: biochemical, molecular and medical aspects. *Mol Aspects Med* 2004;25:495-520.
- Brass EP, Paul HS, Sekas G. Systemic carnitine deficiency: a treatable disorder. In Glew RH, Rosenthal MD (eds). *Clinical studies in medical biochemistry*. 3rd ed. Oxford: Oxford Press; 2007. p. 101-106.
- Bruno C, DiMauro S. Lipid storage myopathies. *Curr Opin Neurol* 2008;21:601-606.
- Engel AG, Angelini C. Carnitine deficiency of human skeletal muscle with associated lipid storage myopathy: a new syndrome. *Science* 1973;179:899-902.
- Koizumi A, Nozaki J, Ohura T, Kayo T, Wada Y, Nezu J et al. Genetic epidemiology of the carnitine transporter OCTN2 gene in a Japanese population and phenotypic characterization in Japanese pedigrees with primary systemic carnitine deficiency. *Hum Mol Genet* 1999;8:2247-2254.
- Longo N, San Filippo CA, Pasquali M. Disorders of carnitine transport and the carnitine cycle. *Am J Med Genet Part C (Semin Med Genet)* 2006;142C:77-85.
- Nelson D, Cox MM. *Lehninger principles of biochemistry*. 5th ed. New York: Freeman; 2008.
- Roe CR, Dong J. Mitochondrial fatty acid oxidation disorders. In Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (eds). *The metabolic and molecular basis of inherited disease*. 8th ed. New York: McGraw-Hill; 2001. p. 2297-2326.
- Rosenthal MD, Glew RH. *Medical biochemistry*. Wiley; 2009.
- Rubio-Gozalbo ME, Bakker JA, Waterham HR, Wanders RJA. Carnitine-acylcarnitine translocase deficiency, clinical, biochemical and genetic aspects. *Mol Aspects Med* 2004;25:521-532.
- Wang Y, Ye J, Ganapa V, Longo N. Mutations in the organic cation/carnitine transporter OCTN2 in primary carnitine deficiency. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:2356-2600.