

# MIOPATIA POR DEFICIÊNCIA DE CARNITINA-PALMITIL-TRANSFERASE

RELATO DE 2 CASOS COM DOSAGENS ENZIMATICAS NO TECIDO MUSCULAR

*LINEU CESAR WERNECK \**

*CARLOS ALBERTO DE ALMEIDA BOER \*\**

*ALEXANDROS PAPADIMITRIOU \*\*\**

*SALVATORE DI MAURO \*\*\*\**

Nos últimos anos, as atenções se voltaram para o metabolismo dos lipídios musculares e seu papel como fonte de energia. Além do conhecimento da metabolização dos lipídios em condições normais, foram descritas diversas doenças decorrentes de defeitos na sua utilização<sup>1</sup>. Assim, Bradley e col., relataram uma miopatia com acúmulo de lipídios em 1969<sup>2</sup>. Logo, em 1970, Engel e col., publicaram os casos de duas irmãs com mioglobínúria e dificuldades no metabolismo dos ácidos graxos de cadeia longa<sup>3</sup>. Três anos depois, Engel e col., conseguiram demonstrar, em uma miopatia vacuolar com acúmulo de lipídios, que existia deficiência de carnitina muscular<sup>4</sup> e, no mesmo ano, Di Mauro e Di Mauro descreveram os dois primeiros casos de deficiência de carnitina-palmitil-transferase (CPT) em dois irmãos com mioglobínúria recorrente<sup>5</sup>. Desde então, diversos novos casos de deficiência de CPT foram sendo descritos e, até 1982, existiam 27 registros na literatura<sup>6</sup>.

O presente trabalho refere-se a dois casos com deficiência de CPT, comprovados por dosagem enzimática no tecido muscular e, de nosso conhecimento, são os dois primeiros casos descritos e comprovados no Brasil.

## OBSERVAÇÕES

*Caso 1* — ACC, registro 483.245, 25 anos de idade, branco. Desde os 7 anos de idade, após esforços físicos prolongados, como jogar futebol, começou a sentir dores musculares, que aumentam gradativamente de intensidade, conduzindo a rigidez muscular, com dificuldade para executar qualquer tipo de movimento. Permanece com dores

---

Trabalho realizado em: Disciplina de Neurologia do Departamento de Clínica Médica da Universidade Federal do Paraná, Curitiba; Hospital Evangélico de Londrina, Londrina; The Houston Merritt Clinical Research Center for Muscular Dystrophy and Related Disorders, Columbia University, College of Physicians and Surgeons, New York. \* Professor Assistente de Neurologia; \*\* Médico Neurologista; \*\*\* Post-doctoral Fellow; \*\*\*\* Professor de Neurologia. *Agradecimento*: Agradecemos aos Drs. Altair J. Mocelin, Pedro Gordon, Anuar Matni e Gilson Lacerda do Serviço de Nefrologia do Hospital Evangélico de Londrina, a permissão para estudar os presentes casos.

por dois ou três dias, havendo necessidade de repouso no leito para obter alívio completo. As dores musculares também são desencadeadas quando vai tomar banho de rio, em água fria corrente. Nos últimos dois anos, coincidentemente às crises de dores musculares, apresenta mudança da cor da urina. A urina toma a cor de chá forte, aspecto que desaparece ao mesmo tempo que os sintomas musculares. Informa que quando mastiga demais, os músculos faciais ficam muito duros e fracos. *Antecedentes familiares* — Um irmão com crises semelhantes (caso 2) e um irmão menor de 10 anos de idade, com ocasionais crises de dores musculares após exercício (Fig. 1). *Exame físico* — Pressão arterial 110x75 mmHg, frequência cardíaca 64 bpm e temperatura 36,6°C. Cabeça, pescoço, tórax, pré-córdio, abdômen e extremidades, normais. *Exame neurológico* — Estado mental, nervos cranianos, sistema motor, sistema sensitivo, reflexos e marcha, normais. *Investigação* — Hemograma, VHS, exame parcial de urina, provas para erros inatos do metabolismo na urina, sódio, potássio, cloretos, bicarbonato, pCO<sub>2</sub>, pH, proteínas totais, eletroforese de proteínas, cálcio, fósforo, fosfatase alcalina, fosfatase ácida, ácido úrico, proteína C reativa, fatores antinucleares, glicemia, colesterol, triglicéridos, uréia, creatinina, PBI, T3, T4, 17 KS e 17 OH urinários, líquido cefalorraquidiano, eletrocardiograma e vectocardiograma, normais. Transaminase glutâmico piruvica 26 URF, transaminase oxaloacética 23 URF, creatinafosfoquinase 10 u. Sigma, aldolase 4 u. Sigma e desidrogenase láctica 98 UI /l. Prova de produção de lactato com basal de 1,98 mmol/l (controle 2,92 mmol/l) e, após um minuto de exercício isquêmico, seguido de um minuto de circulação muscular no membro estudado, foi de 4,93 mmol/l (controle 5,17 mmol/l). Eletromiografia dos músculos bíceps, 1º interósseo, quadríceps e tibial anterior, mostraram silêncio elétrico em repouso. Atividade de inserção normal. Duração média dos potenciais de ação voluntários dentro do limite normal para a idade, com voltagens médias normais. Raros polifásicos curtos em todos os músculos testados. Excesso de potenciais polifásicos longos nos músculos tibial anterior e 1º interósseo. Recrutamento aos esforços aumentado, com padrão BSAP nos bíceps. Testes de estimulação repetitiva para disfunção de placa mioneural foram normais. Velocidade de condução nervosa motora no mediano foi de 55,5 m/s e no peroneiro 53,0 m/s. *Evolução* — Após um exercício prolongado, desenvolveu severa mialgia, com contraturas e mioglobínúria. Nessa ocasião (creatinafosfoquinase 5.830 UI/l, desidrogenase lactica 287 UI/l), desenvolveu insuficiência renal aguda, necessitando de diálise peritoneal. Remissão da disfunção renal sem dificuldades e por ocasião da alta hospitalar estava normal.

*Caso 2* — GC, registro 483243, 19 anos de idade, branco. Desde os 8 anos de idade vem apresentando crises de dores musculares generalizadas, desencadeadas por esforços físicos moderados, como andar 2 Km ou jogar futebol. Se antes de qualquer esforço não se alimenta direito, as crises são desencadeadas com maior facilidade. Durante as crises as dores, que no início são discretas, vão aumentando gradativamente de intensidade. A medida em que continua o exercício, além das dores, apresenta contração da musculatura, que, então, dificulta qualquer tipo de movimento. Melhora espontaneamente das crises após duas ou três horas de repouso. Nega, até o momento, mudanças na cor da urina. *Antecedentes patológicos* — Crises convulsivas aos 4 anos de idade, tratadas com fenobarbital até os 10 anos. *Antecedentes familiares* — Um irmão gêmeo heterozigoto assintomático até o momento, um irmão com crises semelhantes (caso 1) e um irmão de 10 anos de idade, com ocasionais crises de dores musculares

após exercícios (Fig. 1). *Exame físico* — Pressão arterial de 120x80 mmHg, frequência cardíaca 84 bpm e temperatura 36°C. Cabeça, pescoço, tórax, coração, abdômen, normais. Presença de pés cavos bilateralmente. *Exame neurológico* — Estado mental, nervos cranianos, sistema motor, sistema sensitivo, reflexos e marcha, normais. *Investigação* — Hemograma, VHS, exame parcial de urina, provas para erros inatos no metabolismo na urina, sódio, potássio, cloretos, cálcio, bicarbonato, fósforo, fosfatase alcalina, fosfatase ácida, proteínas totais, eletroforese de proteínas, proteínas C reativa, fatores antinucleares, glicemia, colesterol, triglicéridos, uréia, creatinina, PBI, T3, T4, 17 KS e 17 OH urinários, eletrocardiograma e vectocardiograma normais. Transaminase glutâmico piruvica 13 URF, transaminase oxaloacética 17 URF, creatinafosfoquinase 10 u. Sigma, aldolase 6 u. Sigma e desidrogenase láctica 84 UI/l. Prova de produção de lactato, com basal de 2,53 mmol/l (controle 2,92 mmol/l) e após um minuto de exercício isquêmico, seguido de um minuto de circulação muscular no membro estudado, foi de 4,25 mmol/l (controle 5,17 mmol/l). Eletromiografia dos músculos bíceps, 1º interósseo da mão, quadríceps e tibial anterior, mostraram silêncio elétrico durante o repouso. Por ocasião das contrações voluntárias, as durações médias dos potenciais estavam aumentadas no 1º interósseo e tibial anterior direito, com voltagens entre 4000 e 6000 no 1º interósseo, quadríceps e tibial anterior. Recrutamento aos esforços reduzido no 1º interósseo, quadríceps e tibial anterior. Excesso de potenciais polifásicos longos no tibial anterior e 1º interósseo. Ocasionais potenciais polifásicos curtos em todos os músculos testados. Testes de estimulação repetitiva para disfunção de junção mioneural foram negativos. Velocidade de condução nervosa motora para o nervo mediano foi de 60,0 m/s e para o peroneiro 50,0 m/s.

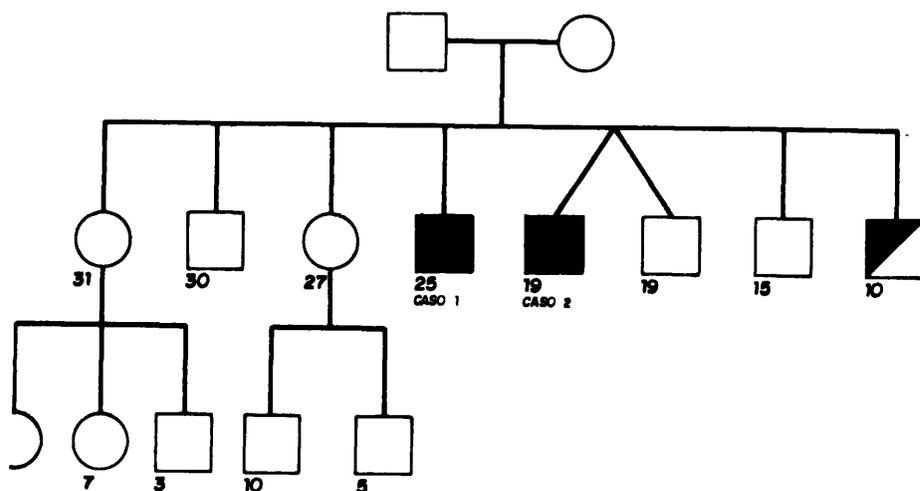


Fig. 1 — Heredograma dos casos estudados.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Biópsia de músculo quadríceps de ambos casos, obtida por anestesia local e retirada de dois fragmentos musculares. Um deles foi processado para congelação a fresco e para histoquímica, conforme técnica e métodos publicados anteriormente 15. O segundo fragmento, foi imediatamente congelado em nitrogênio líquido a  $-170^{\circ}\text{C}$  e armazenado por alguns dias. A seguir foi transportado para New York, em "container" de isopor com neve carbônica, à temperatura de  $-70^{\circ}\text{C}$ . Concomitante, também foram enviados outros espécimes para controle. No laboratório, para estudos bioquímicos, os espécimes foram homogenizados em 9 volumes de 0,15M KCl, 50 mM Tris-HCl (pH 7,4) em "all-glass" e homogenizador acionado por motor. A atividade da carnitina-palmitil-

-transferase (CPT) e da carnitinaoctanoil-transferase (COT) foi medida em alíquota do total homogenizado, por troca de isótopo  $^{14}$ C. A atividade da carnitina-acetil-transferase (CAT) foi estudada em 1000 g/minuto de supernadante por método espectrofotométrico  $^{14}$ C. Para determinação da carnitina, uma parcela do soro homogenizado foi misturado com igual quantidade de ácido perclorídrico frio a 10% e centrifugado a 27000 g/15 minutos. A carnitina livre foi medida no supernadante neutralizado pelo método de McGarry e Foster  $^{14}$ C.

### RESULTADOS

O estudo histológico dos fragmentos musculares de ambos os casos, mostrou discreto aumento do volume das gotículas de lipídios musculares, ao serem coradas pelo "oil red O" e aumento das granulações do NBT reduzido na desidrogenase succínica (Figs. 2 e 3). Os ensaios bioquímicos mostraram baixa atividade da carnitina-palmitil-transferase, com níveis normais da carnitina-octanoil-transferase e carnitina-acetil-transferase. Os níveis de carnitina muscular e carnitina plasmáticas estavam dentro dos limites da normalidade (Tabela 1).

Caso	CPT *	COT *	CAT **	Carnitina	
				Músculo	Plasma
1	10,85	501,4	2,13	21,0	39,0
2	7,23	331,9	1,55	22,0	40,0
Controles	66,70 $\pm$ 7,3	235,0 $\pm$ 56,5	1,57 $\pm$ 0,48	19,3 $\pm$ 4,8	51,1 $\pm$ 11,1

Tabela 1 — Atividade de enzimas aciltransferases e nível de carnitina no tecido muscular dos casos 1 e 2. \* Valores da atividade de carnitina-palmitil-transferase (COT) em pmoles  $^{14}$ C-carnitina de troca/minuto/grama de tecido fresco. \*\* Atividade de carnitina-acetil-transferase (CAT) em pmoles de acetilcarnitina formada/minuto/grama de tecido fresco. \*\*\* Níveis de carnitina em nmoles/mg de proteína livre de colágeno.

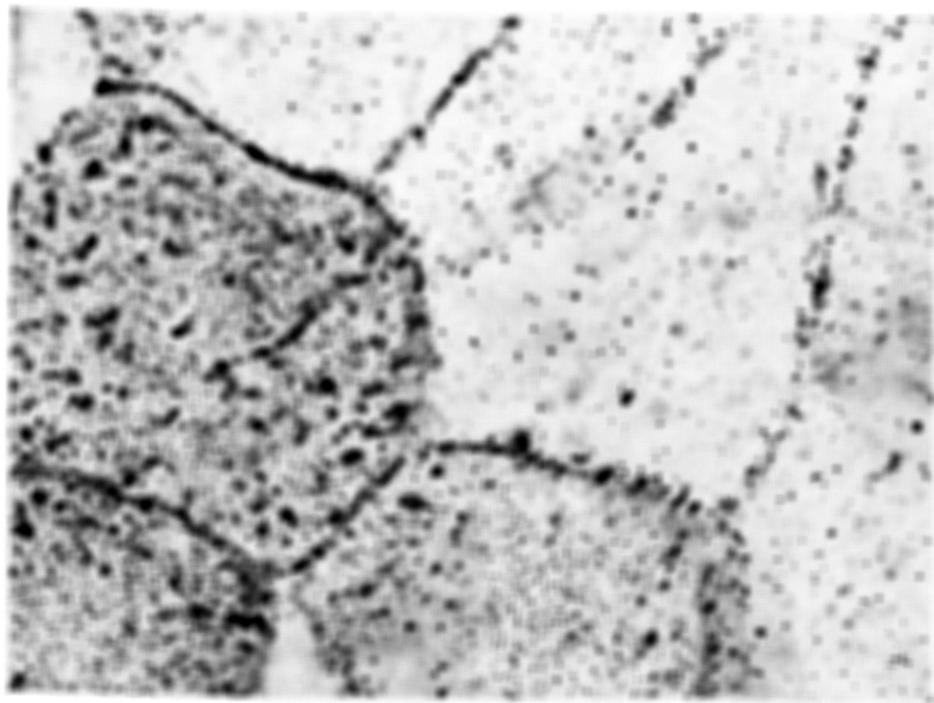
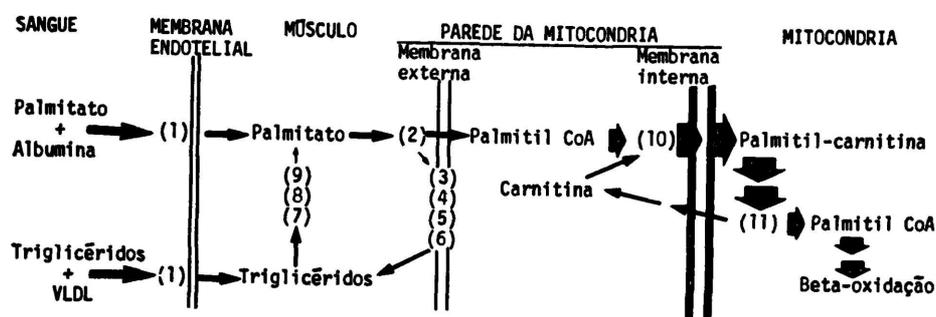


Fig. 2 — Caso 1. Biópsia de músculo biceps, revelando aumento do número e volume das gotículas de gordura em fibras do tipo 1. (Oil red O, 400x).



*Fig. 3 — Caso 2. Biópsia de músculo biceps, revelando aumento da intensidade e do número de granulações do NBT reduzido nas fibras do tipo I, sugerindo atividade aumentada a nível das mitocôndrias (Desidrogenase succínica, 400x).*



*Fig. 4 — Esquema da via metabólica dos ácidos graxos triglicéridos para entrarem no ciclo de Krebs: (1) Lipases; (2) Palmitil CoA sintetase; (3) Glicerol-1-fosfato; (4) Glicerol-fosfato acil-transferase; (5) Fosfatidato fosfatase; (6) Diglicérido acil-transferase; (7) Triglicérido lipase; (8) Diglicérido lipase; (9) Monoglicérido lipase; (10) Carnitina-palmitil-transferase I; (11) Carnitina-palmitil-transferase II.*

#### COMENTARIOS

Durante o exercício severo, a fonte de energia muscular é proveniente da utilização do oxigênio em seu limite máximo e do metabolismo do glicogênio, coincidindo a exaustão com a depleção total deste último. A continuidade do exercício induz a uma troca gradual do metabolismo dos hidratos de carbono para o dos lipídios. Assim, o glicogênio muscular e a glicose sanguínea são utilizados nos primeiros 40 minutos. Após este tempo, os ácidos graxos tornam-se cada vez mais importantes e depois de algumas horas, são a maior fonte de energia <sup>6,10</sup>.

Os lipídios plasmáticos de origem, exógena, que participam do metabolismo muscular, são os ácidos graxos ligados à albumina e os triglicéridos, transportados pelas lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL-Very Low Density Lipoprotein). Os ácidos graxos são liberados da albumina e os triglicéridos das VLDL por ação de uma lipase, que se localiza na parede das células endoteliais.

Deste ponto, são transportados para dentro da fibra muscular. Uma vez no interior da fibra, os ácidos graxos, principalmente o palmítico, são ativados pela palmitil CoA sintetase, utilizando ATP, a nível da parede externa da mitocôndria, dando origem à palmitil-CoA. A palmitil-CoA pode seguir dois caminhos: 1) Pode ser desdobrada pela ação de diversas enzimas (glicerol-1-fosfato, glicerol-fosfato-aciltransferase, fosfatidato fosfatase e diglicérido aciltransferase), para formar triglicéridos, que serão depositados no músculo como gotículas de gordura. Estas gorduras podem ser mobilizadas, quando necessário, pela ação das tri-, di-, e mono-glicérido lipase, para formar novamente palmitato e palmitil-CoA. 2) A palmitil-CoA, que não consegue novamente penetrar na membrana interna da mitocôndria, combina-se com a carnitina, pela ação da enzima carnitina-palmitil-transferase I (CPT I), ligada à face externa da membrana interna da mitocôndria, originando a palmitil-carnitina. A esterificação com a carnitina, permite a passagem dos ácidos graxos através da membrana interna da mitocôndria, por processo de difusão de troca, facilitada pela carnitina-aciltranslocase. Uma vez dentro da mitocôndria, uma segunda carnitina-palmitil-transferase (CPT II), que existe na face interior da membrana interna, converte a palmitil-carnitina novamente em palmitil-CoA, que irá a beta-oxidação, sendo então utilizada como energia no ciclo de Krebs <sup>6,7</sup> (Figura 4).

A deficiência de CPT, impede a utilização dos ácidos graxos de cadeia longa, causando seu acúmulo no tecido muscular. Se o exercício continuar, após a total utilização dos hidratos de carbono muscular, por não conseguirem metabolizar os lipídios musculares de reserva, surgirão os sintomas da deficiência. Nos pacientes com deficiência de CPT, este exercício não necessita ser muito intenso, mas a combinação de diversos fatos, como jejum, ansiedade, falta de sono e exposição ao frio, propiciam o desencadeamento da crise <sup>6</sup>. O metabolismo dos hidratos de carbono é normal nos pacientes com deficiência de CPT e a sua capacidade de exercício intenso tem curta duração, pois o prolongamento das atividades musculares desencadeia uma "crise de energia", pela dificuldade em utilizar ácidos graxos <sup>3,6,14</sup>. Quando o músculo é submetido a esforços acima de sua capacidade energética, possivelmente com resultante deficiência de ATP e outros fosfatos de alta energia, não é possível manter a estrutura de suas membranas, lesando a célula e causando mioglobínúria <sup>13</sup>. Os sintomas clínicos são caracterizados por mioglobínúria recorrente provocada pelo exercício, dores musculares, rigidez muscular, aumento de volume do músculo e astenia durante os esforços prolongados, que estão presentes desde a infância. Em 21 casos publicados, nos quais existia mioglobínúria, 5 desenvolveram insuficiência renal <sup>6,7</sup>.

No intervalo das crises, os exames de laboratório são normais <sup>7</sup>. A prova de produção de lactato durante o exercício isquêmico também é normal, comprovando a normalidade do metabolismo dos hidratos de carbono. Durante as crises de dor, astenia ou mioglobínúria, a creatinafosfoquinase aumenta. A eletromiografia é normal na intercrise <sup>6</sup>. As biópsias musculares no intervalo das crises, são normais na maioria dos casos. Em 30% dos casos, foi demonstrado um aumento de lipídios nas fibras musculares, principalmente nas fibras do tipo I,

embora menos marcante que na deficiência de carnitina. A microscopia eletrônica revela aumento da fração lipídica entre 2 a 23 vezes o normal, enquanto na deficiência de carnitina este aumento é de até 84 vezes<sup>7</sup>. Durante as crises com mioglobínúria, pode ser encontrada necrose muscular<sup>1,7,11</sup>. Durante o jejum, os pacientes com deficiência de CPT tendem a ter altos níveis de ácidos graxos e triglicéridos, sem a produção de corpos cetônicos, indicando uma diminuição do respectivo metabolismo, concomitante ao aumento do nível de creatinafosfoquinase plasmática. Esta anormalidade metabólica, facilmente detectável, foi sugerida como um teste diagnóstico<sup>3,6,12</sup>.

A terapêutica proposta, baseando-se no conhecimento bioquímico desta doença, consiste em dietas com grande quantidade de hidratos de carbono e baixa concentração de gorduras, para não sobrecarregar a via metabólica deficiente<sup>7,12</sup>. Também sabendo-se que os triglicéridos de cadeia média não dependem da CPT para seu transporte intramitocondrial, foi tentada a sua administração em um paciente, sem resultados satisfatórios<sup>3</sup>. Deve-se ter cuidado na redução do peso dos pacientes portadores de CPT, pois as dietas com restrição calórica podem fazer recrudescer os sintomas<sup>12</sup>. Por último, estes pacientes devem ser readaptados para uma vida mais sedentária, a fim de evitar as crises musculares e de mioglobínúria<sup>12</sup>.

#### RESUMO

Relato dos casos de dois irmãos, que desde a infância apresentavam dores musculares após exercício prolongado ou exposição ao frio, com diminuição da força, à medida que o exercício continuava. Um deles desenvolveu mioglobínúria recorrente e, em um episódio apresentou insuficiência renal aguda, necessitando de diálise peritoneal. A investigação laboratorial intercrise foi normal, mas durante o episódio de mioglobínúria, apresentou grande aumento da creatinafosfoquinase. A eletromiografia foi sugestiva de processo de denervação. Teste de produção de lactato durante isquemia foi normal. Biópsias musculares mostraram discreto aumento dos lipídios nas fibras musculares e maior atividade da desidrogenase succínica na histoquímica. O estudo bioquímico do tecido muscular dos dois pacientes, revelou importante redução da atividade da carnitina-palmitil-transferase, com atividade normal da carnitina-octanoil-transferase e carnitina-acetil-transferase. São discutidas as vias metabólicas, sua importância na manutenção da energia muscular durante o exercício prolongado e o papel dos ácidos graxos como fonte energética muscular durante condições normais e patológicas.

#### SUMMARY

*Carnitine-palmityl-transferase deficiency myopathy: report of two cases with enzymatic muscle study.*

We describe two brothers, 25 and 19 years-old, with muscle pain and decreased strenght after prolonged exercise; these symptoms are worsened by cold whether of fasting. One of the patients developed recurrent myoglobinuria and had one episode of renal failure. Laboratory investigations were normal

between the crises, but during myoglobinuria, serum creatinekinase activity increased 100 times. Electromyography was suggestive of denervation. Muscle biopsy showed increased lipid droplets by the "oil red O" stain and increased activity of succinic dehydrogenase histochemical reaction. Lactate production during ischemia was normal. Biochemical analysis showed decreased carnitine-palmitoyl-transferase activity in muscle (7.23 and 10.58 nmoles/min/gr; normal range  $66.7 \pm 17.3$ ), with normal values for carnitine-octanoyl-transferase and carnitine-acetyl-transferase. The metabolic pathway of fatty acid utilization as an energy source for muscle during exercise in normal and in pathological conditions is discussed.

#### REFERÊNCIAS

1. BERTORINI, T.; YEH, Y-Y; TREVISAN, C.; STADLAN, E.; SABESIN, S. & DI MAURO, S. — Carnitine palmitoyl transferase deficiency: myoglobinuria and respiratory failure. *Neurology (Ny)* 30:263, 1980.
2. BRADLEY, W. G.; DUDGSON, P.; GARDNER-MEDWIN, D. & WALTON, J. N. — Myopathy associated with lipid storage in skeletal muscle, heart and kidney. *Lancet* 1:495, 1969.
3. CARROL, J. E.; BROOKE, M. H.; De VIVO, D. C.; KAISER, K. K. & HAGBERG, J. M. — Biochemical and physiologic consequences of carnitine palmitoyl transferase deficiency. *Muscle & Nerve* 1:103, 1978.
4. DI MAURO, S. — Metabolic myopathies: Disorders of glycogen and lipid metabolism. Update in neurology & neurosurgery. Cont. Prof. Educ. Center. Inc., Princeton, 1982.
5. DI MAURO, S. & DI MAURO, P. M. M. — Muscle carnitine palmitoyl transferase deficiency and myoglobinuria. *Science* 182:929, 1973.
6. DI MAURO, S. & TREVISAN, C. — Carnitine palmitoyl transferase (CPT) deficiency: a review. In Schotland, D. L. (ed.): Disorders of the Motor Unit. John Wiley & Sons Inc., New York, 1982.
7. DI MAURO, S.; TREVISAN, C. & HAYS, A. — Disorders of lipid metabolism in muscle. *Muscle & Nerve* 3:369, 1980.
8. ENGEL, A. G. & ANGELINI, C. — Carnitine deficiency in human skeletal muscle with associated lipid storage myopathy: a new syndrome. *Science* 179:899, 1973.
9. ENGEL, W. K.; VICK, N. A.; GLUECK, J. LEVY, R. I. — A skeletal muscle disorder associated with intermittent symptoms and a possible defect in lipid metabolism. *N. Engl. J. Med.* 282:697, 1970.
10. FELIG, P. & WAHREN, J. — Fuel homeostasis in exercise. *N. Engl. J. Med.* 293:1078, 1975.
11. HERMAN, J. & NADLER, H. J. — Recurrent myoglobinuria and muscle carnitine palmitoyl transferase deficiency. *J. Pediatr.* 91:247, 1977.
12. HOSTETLER, K. Y.; HOPPEL, C. L.; ROMINE, J. S.; SIPE, J. C.; GROSS, S. R. HIGGINBOTHAM, P. A. — Partial deficiency of muscle carnitine palmitoyl transferase with normal ketone production. *N. Engl. J. Med.* 298:553, 1978.
13. REZA, M. L.; NIRMAL, C. K.; PERSON, C. & KARK, R. A. P. — Recurrent myoglobinuria due to muscle carnitine palmitoyl transferase deficiency. *Ann. int. Med.* 88:610, 1978.
14. WARSHAW, J. B. — An energy crisis in muscle. *N. Engl. J. Med.* 292:476, 1975.
15. WERNECK, L. C. — O valor da biópsia muscular em neurologia. Estudo de 290 biópsias processadas a fresco pela histoquímica. *Rev. bras. Clin. Terap.* 10: edição especial, março, 1981.