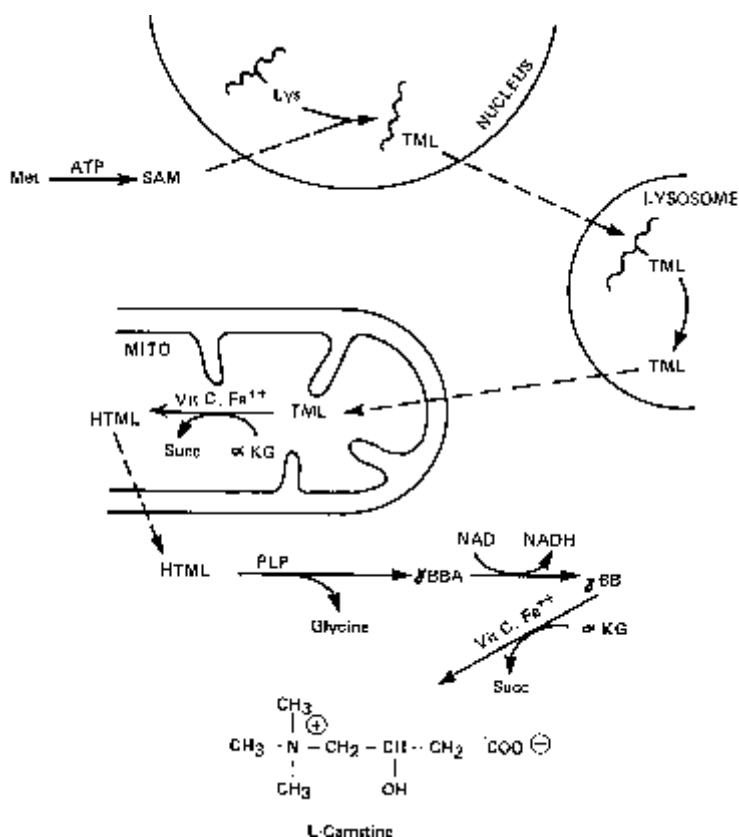


KARNITIN DEFICIENCIÁK

Az emberi szervezetben a karnitin (β -hidroxi- γ -N-trimetilaminovajsav) a hosszú láncú zsírsav-acil KoA mitochondriális importjának, a rövid láncú acil-KoA (propionil-KoA, metilmalonil-KoA) mitochondriális exportjának és a mitochondriális szabad KoA-SH szint fenntartásának esszenciális tényezője. A karnitin lehet táplálék eredetű vagy endogén szintézis terméke. A bioszintézis a következő séma szerint folyik:



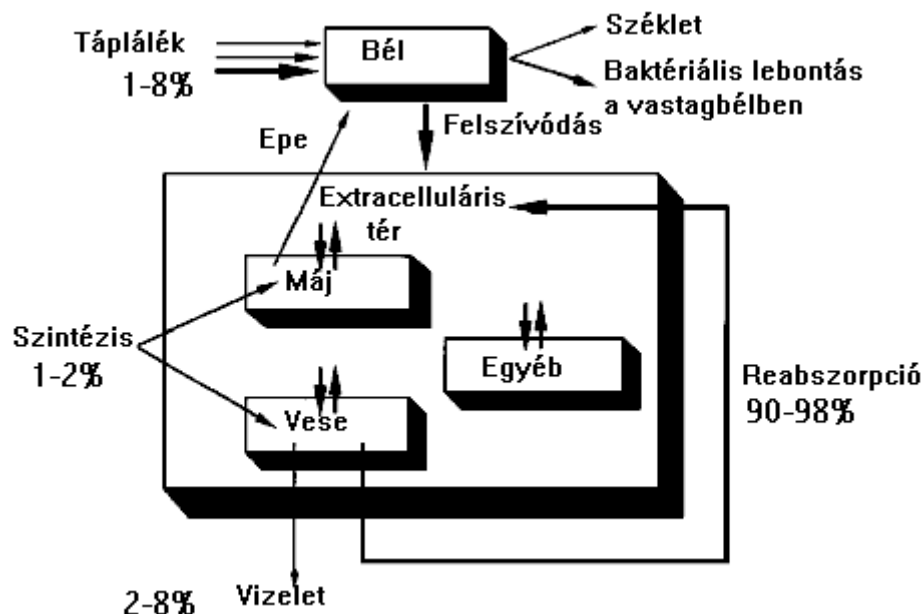
1. Ábra. Karnitin bioszintézise. Rövidítések: SAM, S-adenosyl-methionine; TML, 6-N-trimethyllysine; α KG, α -ketoglutarate; Succ, succinate; HTML, 3-hydroxy-6-N-trimethyllysine; PLP, pyridoxal phosphate; γ BBA, γ -butyrobetaine aldehyde; γ BB, γ -butyrobetaine.

A legtöbb szövetben a 6-N-trimetillizin - γ -butirotetain átalakulás enzimei megtalálhatóak, a γ -butirotetain - karnitin átalakulás viszont csak néhány szervben lehetséges (emberben a γ -butirotetain hidroxiláz csak májban, vesében és agyban van jelen).

Annak ellenére hogy a metabolikus út egyes lépései és enzimei régóta ismertek, a bioszintézis szabályozása egyelőre (1998) ismeretlen. A karnitin- szintézis sebessége a rendelkezésre álló 6-N-trimetillizin mennyiségétől függ, amely kizárólag fehérjékben beépített lizin oldalláncok módosítása és ezt követő lizoszomális proteolízis során keletkezik. Ezek szerint a karnitin szintézist poszttranszlációs módosítás fokozásával és/vagy fehérjebontás fokozásával lehetne serkenteni. Mivel egyik folyamat sem szigorúan specifikus a karnitin bioszintézisére, az endogén

karnitin szintézis sebessége nehezen tudna alkalmazkodni a változó karnitin igényekhez, és ebből kifolyólag az emberi szervezet exogén karnitinre lesz utalva fokozott karnitin igény esetén.

Az emberi szervezet hatékony mechanizmusokkal rendelkezik a karnitin konzerválására (2. Ábra)



2. Ábra. Karnitin homeosztázisa. A számok az egyes ágak relatív arányát jelölik a karnitin körforgásában az emberi testen belül.

Az ember nem képes a karnitint lebontani. Karnitin csak a vizelettel távozik a szervezetből, szabad formában vagy acil-karnitinként. A 2. ábra szerint a vese nagy hatékonysággal reabszorbeálja a karnitint. A karnitin pótlása táplálékból vagy endogén szintézis útján történik; e két forrás általában azonos arányban vesz részt a pótlásban. A karnitin felszívódása a bélben szabályozott, de ennek mechanizmusa ismeretlen; igénytől függően a táplálékban levő karnitin 54-87%-a szívódhat fel. A vesében zajló reabszorpció is szabályozás alatt áll. Ezzel szemben az endogén szintézis korlátozott adaptív képességgel rendelkezik. A 2. ábra szerint a karnitin hiánya a táplálékban (pl. vegetáriánusoknál) teljes mértékben kompenzálható maximálisan aktivált endogén bioszintézissel és vese reabszorpcióval. Hasonlóan a szokásos kevert típusú diéta karnitin tartalma aktív vese reabszorpció mellett kompenzálhatja a bioszintézis esetleges hiányát (pl. a metabolikus út valamelyik enzimének hipotetikus hiánya esetén; egyelőre (1998) ilyen enzim hiány nem ismert). Ezzel szemben a karnitin két forrása akkor sem lenne képes kompenzálni a vese reabszorpció defektusát, ha maximálisan aktiválódna.

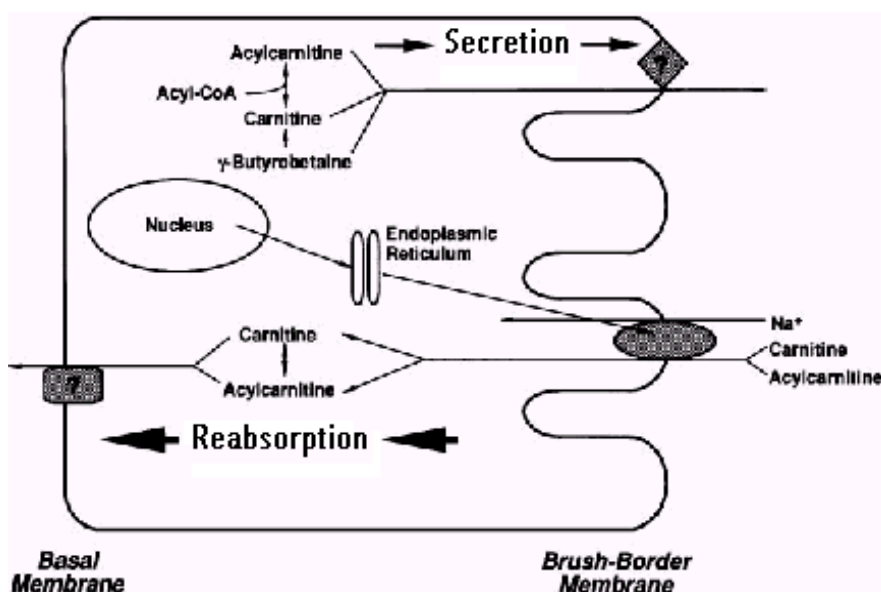
A γ -butyrobetaine hidroxilációja főleg a májban zajlik, és a máj az egyetlen szerv ahol nettó karnitin felszabadulás történik. A többi szövet plazma karnitint vesz fel. A kedvezőtlen koncentrációs gradiens miatt (40-50 μ M karnitin az extracelluláris térben a 600-700 μ M intracelluláris koncentrációval szemben) a felvétel aktív transzportot igényel: egy "exchange" (kicsérelő) transzport rendszer és két Na^+ -dependens transzporter (Na^+ -karnitin kotranszport) ismert (1. Táblázat). A nagy affinitású karnitin transzporter azonosnak bizonyult az organikus kation transzporter OCTN2-vel: egy olyan fehérjecsald tagja, amelynek képviselői 12 transzmembrán

doménnel, nukleotidkötő hellyel rendelkeznek és részt vesznek detoxifikálási folyamatokban, drogok kiválasztásában és transzplacentáris transzportokban. Az “exchange” transzporter kétféle kicsérlődést katalizál: intracelluláris acil-karnitin/extracelluláris szabad karnitin (ez nyilvánvalóan nem jelent nettó karnitin felvételt) és szabad extracelluláris karnitin/ intracellulárisan szintetizált γ -butyrobetaine (ebben az esetben a γ -butyrobetaine szintézisébe befektetett energia fedezi a transzport energiaigényét). A külön karnitin efflux-rendszer telíthető és nem energiaigényes.

Szövet	Na ⁺ -dependens nagy affinitású felvétel ($K_T=2-20 \mu\text{M}$)	Na ⁺ -dependens kis affinitású felvétel ($K_T=0.2-5 \text{ mM}$)	Efflux	Exchange
Máj	-	+	+	-
Szív	+	-	-	+
Vázizom	+	+	+	+
Vese	+	+	-	-
Fibroblaszt	+	+	-	-

1. Táblázat. A karnitrintranszporterek szöveti eloszlása. Rövidítések: K_T = az a karnitinkoncentráció, amely mellett a transzport fél-maximális sebességgel zajlik.

A vese döntő szerepet játszik az egész test karnitin homeosztázisában, mivel a reabszorpció során visszatartja a szervezet karnitin tartalékát (2. és 3. Ábra).



3. Ábra. Karnitin metabolizmusa a vese tubuláris hámsejtjeiben.

A karnitin deficienciák változó klinikai tünetekkel jelentkező heterogén betegcsoport. A karnitinnak a zsírsavak oxidációjában és az intracelluláris szabad és acil-KoA homeosztázisában betöltött szerepének ismeretében a klinikai megjelenés megjósolható (Ld. klinikai esetek). Karnitin deficienciáról akkor beszélünk, amikor a szöveti karnitin koncentráció alacsonyabb a normális metabolizmus igényeinél.

Etiológia alapján a karnitin deficienciák primér és szekunder formákra osztályozhatók az alábbiak szerint.

1. Primér karnitin deficienciák (veleszületett rendellenességek, amelyek a karnitin homeosztázis valamelyik komponensét érintik)

1.1. Primér szisztémás karnitin deficiencia

A karnitin koncentráció alacsony mind az érintett szövetekben (szív, vázizom, máj), mind a vérplazmában. A klinikai kép a progresszív kardiomiopátia, a miopátia és a hipoketotikus hipoglikémiás hiperammonémiás encephalopátia tüneteiből adódik (Ld. klinikai esetek). A betegség molekuláris háttere az OCTN2 defektusa miatt fellépő karnitin veszteség a vizeletben. Primer karnitin deficienciában szenvedő betegeknél néhány OCTN2 mutációt írtak le: bázis szubsztitúció, amely az Arg-282 kodonját STOP kodonná alakítja át, inszerció, amely új STOP kodont eredményez. Ezek a mutációk csökkent OCTN2 mRNS szinthez és működésképtelen transzporterhez vezetnek. A diagnózis alapja a karnitin felvétel meghatározása tenyésztett fibroblasztokon, amelyek ugyanazt a transzportert expresszálják (1. táblázat).

1.2. Primér miopátiás karnitin deficiencia

A karnitintartalom alacsony a vázizomban, de normális a plazmában és a májban. A klinikai kép progrediáló izomgyengeségből és zsírtárolási miopátia tüneteiből adódik, amelyet izom eredetű enzimek plazmaszintjének emelkedése kísér. A betegség az élet korai szakaszában vagy felnőtt korban kezdődhet. A betegség molekuláris háttere a karnitin efflux transzporter defektusa miatt fellépő fokozott szöveti karnitin veszteség. Tenyésztett mioblasztokon ki lehet mutatni a fokozott karnitin effluxot normális karnitin felvétel mellett.

2. Szekunder karnitin deficienciák (fokozott karnitin veszteség a vizeletben, amely karnitint igénybevevő metabolikus utak veleszületett vagy szerzett rendellenességei kapcsán lép fel)

2.1. Acil-KoA származékok rendellenes oxidációja a mitochondriumban (pl. metilmalonil-KoA izomeráz deficiencia, B₁₂ vitamin deficiencia).

2.2. A mitochondriális légzési lánc defektusai (pl. I. komplex hiánya, amelynél az ATP szint nem elégséges a Na⁺ gradiens fenntartásához és így elégtelen a renális reabszorpció).

2.3. Renális tubuláris Fanconi-szindróma (általános transzport- defektus a kis molekulák reabszorpciójában).

Klinikai esetek

Esetleírás I.

3,5 éves fiú, normális terhesség után komplikációmentesen született. A családi anamnézis negatív, kivéve a bátyját, aki 3 hónapos korban meghalt kiderítetlen etiológiájú kómában.

3 hónapos korban a beteg kómában került a körzeti kórházba, ahol szívmegállás következett be. Vércukor szintje 0,83 mmol/l volt. Akkor észlelték először a hepato- és kardiomegáliát. Intenzív terápiás beavatkozások után a hepatomegália visszafejlődött, és a beteg állapota javult. 6 hónapos korban az egyik egyetemi klinikára vették fel egy felső léguti hurut utáni kongesztív szívelégtelenség

állapotában. Akkor hepatomegáliát és hipotóniát figyeltek meg. A 3. napon letargiás lett, szívmegállás következett be, de sikeresen reszuscitálták. Laboratóriumi leletei: vércukor 0,83 mmol/l kísértő acidózis és ketózis nélkül, szérumsz-aszpartát aminotranszferáz (SGOT) mérsékelten emelkedett (337 U/l, norm. 10-45), hiperammónémia (168 μ mol/l, norm. < 38). Felépülése után megfigyelték a proximális izomgyengeséget és a fejlődési retardációt (súlya és magassága 3 percentil alatt voltak). Szívkatéterezéssel enyhe pitvari szeptumdefektust és kétoldali kamra hipertrófiát állapítottak meg. Az anyagcsere vizsgálatok normális glükóz, galaktóz és fruktóz toleranciát mutattak, normális 10 órás éhezés utáni vércukrot, laktát-, piruvát- és ketontest-szint emelkedése nélkül. A kortizol és inzulin szintje, a vércukor válasza glükagon stimulációra, és a vizelet aminosav és szervessav kromatográfiája nem mutattak kóros eltéréseket. Az elektroencefalogram, az agy CT-je, a kromoszóma vizsgálat szintén normális volt. Az akut események közötti időszakban a vércukor, ammónia, SGOT, SGPT és kreatin foszfokináz értékei normálizálódtak. A következő laborvizsgálatok szintén normális értékeket mutattak: szérumsz-elektrolitok, kalcium, foszfor, magnézium, bilirubin, tiroxin, TSH, növekedési hormon, szérumsz-összfehérje, szérumsz-fehérje elektroforézis, cerebrospinális likvor, immunfunkciós vizsgálatok.

A beteg ismételten jelentkezett keringési és légzési elégtelenséggel felső légúti infekciók után 20, 24 és 33 hónapos korban. Minden esemény után lassan épült fel. A fellángolásokat májmegnagyobbodás, transzamináz szint emelkedés (2000 U/l-re), kreatin foszfokináz felszaporodás (1500-ról 33000 U/l-re) kísérte. A glükózigény normális (3 mg/kg/min) és mérsékelten emelkedett értékek (5-7 mg/kg/min) között ingadozott.

A 11. felvételnél észlelték a máj zsíros elváltozásait és a ketontest képzés hiányát 24 órás éhezés után. Akkor került sor a karnitin máj-, izom-, szérumsz-, vizeletszintjének meghatározására (2. Táblázat).

Terápia: A beteg 4 g DL-karnitint kapott naponta, és alacsony zsírtartalmú diétán tartották. Állapota drámaian javult: két hét alatt hepatomegáliája eltűnt, az SGPT érték normálizálódott. Izomereje fokozatosan javult. Ilyen betegnél a karnitinpótlást élete végéig kell folytatni. A 2. táblázat megadja a karnitin szöveti és szérumsz-szintjét 3 hónapos kezelés után is.

Szövet	Kontroll	Beteg kezelés előtt	Beteg 3 hónapos kezelés után
Izom ($\mu\text{mol/g}$)	1.22	0.02	0.50
Máj ($\mu\text{mol/g}$)	1.24	0.04	4.98
Szérum ($\mu\text{mol/l}$)	35.5	4.82	18.5
Vizelet($\mu\text{mol/24 h}$)	231	47	1664

2. Táblázat. Szövetek karnitin tartalma.

Kérdések az esethez:

1. Milyen diagnózisra gondol a 6 hónapos korban történt klinikai felvételnél tapasztalt tünetek alapján (felépülése előtt)? Milyen kiegészítő laboratóriumi vizsgálatokat kérne diagnózisa alátámasztására vagy kizárására?

2. Milyen sürgősségi ellátásban részesítené a beteget klinikai felvételénél 6 hónapos korban?

3. Milyen leleteken alapult a végső diagnózis?

4. Szisztémás vagy izomra lokalizált-e a karnitin deficiencia ennél a betegnél?

5. Hogyan lehet különbséget tenni a karnitin deficiencia e két formája között?

6. Zavart-e a piruvát oxidáció ennél a betegnél? Indokolja válaszát!

7. Miért halmozódtak fel a lipidek a májban (11. klinikai felvételnél) ?

8. Lehet-e ennek az állapotnak a piridoxin deficiencia a kiváltó oka? Indokolja állítását!

9. Miért nem tudott a beteg ketontesteket termelni 24 órás éhezés után?

10. Mi a biokémiai alapja a kifejezett hipoglikémiának és a hiperammonémiának ennél a betegnél?

11. Hogyan lehet értelmezni a szérum/ vizelet karnitintartalom arányát ennél a betegnél kezelés előtt és után?

Esetleírás II.

A páciens, egy leány, aki nem vérrokon szülők első gyermeke. Normális terhesség utáni szülés során farfekvés miatt császár metszés volt szükséges.

Kezdetben anyatejet kapott, de 3 napos korában tachypnoessá, hypotoniássá vált és kómába került. Súlyos metabolikus acidozist észleltek (21 mmol/l bázis deficit). Vizeletének és vérének tömegspektrometriás és gázliquid chromatographiás elemzése metilmalonsavas aciduriát mutatott, amit bőr fibroblast sejttenyészeteken végzett vizsgálatok is igazoltak.

Napi 1 mg-os im. B₁₂-vitamin kezelés a várakozással ellentétben a beteg klinikai és metabolikus állapotát nem javította. Fokozatosan csökkentették a fehérjebevitelt (napi 1g/tskg-ig) és aminosavakkal (az izoleucint, valint, threonint és methionint kivéve) egészítették ki diétáját, ami további 1g/tskg proteinnek felel meg. Vitamin és nyomelem-kiegészítést is kapott, további szénhidrát-polimer és lipidbevitel formájában történő kalóriapótlással.

Újszülöttkori életét ismétlődő kórházi kezelések jellemezték, melyekre metabolikus rendellenességek, ún. hipoglikémia, hiperammonémia, és hiperglicinémia miatt került sor. A rosszulletekhez szövődményként súlyos étvágytalanság, ismétlődő hányások és a gasztrointesztinális traktus felső részéből eredő vérzés társult. A kislány a fejlődésben erősen visszamaradt, különösképpen súlyos az elmaradás a beszéd-készségben és az izomfejlődésben. A vizsgálatok időpontjában a gyermek 21 hónapos volt, de fejlettsége a 11 hónapos kornak felelt meg. Magasság szerint az alsó 3 percentilesbe, súly szerint a 3-10 percentilesbe, fejkörfogat szerint az 50 percentiles csoportba tartozott.

A beteget megvizsgálták, nem szenved-e másodlagos karnitin deficienciában. A mért plazma és vizeletértékeket a 3. táblázat mutatja.

A beteg 12.4 mmol D,L-karnitint kapott per os (200 mg/tskg). A vizeletmintákat 24 óráig gyűjtötték és szerves savakat, ill. acilkarnitint határoztak meg belőlük. Ez alatt az idő alatt 476 µmol összkarnitin ürült a vizeletben. Ez a mennyiség a bevitt dózis 8.1 %-a volt. Az összkarnitinból 269 µmol ürült szabad és 207 µmol acilkarnitin formájában. A kiválasztás zöme (77.2%-a) az első 12 órában történt.

<i>Karnitin frakció</i>	<i>Kontroll plazma (μM)</i>	<i>Kontroll vizelet (nmol/mg kreatinin)</i>	<i>Beteg plazma (μM)</i>	<i>Beteg vizelet (nmol/mg kreatinin)</i>
szabad karnitin	36.7	51.3	35.8	142
rövid láncú acil-karnitin	5.7	73.7	17.1	352
hosszú láncú acil-karnitin	3.7		0.3	
Összkarnitin	46.1	125	53.2	494

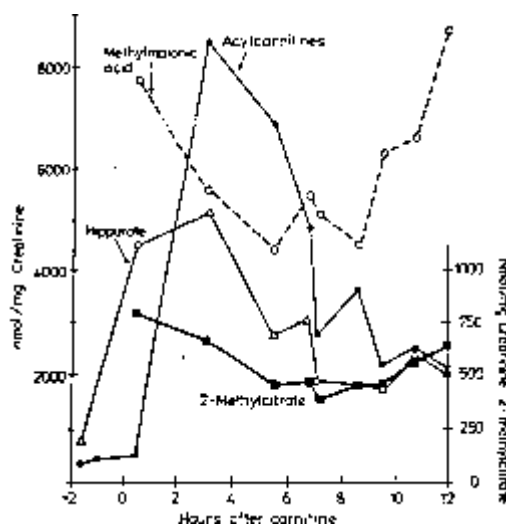
3. Táblázat. Karnitin tartalom plazmában és vizeletben egészségeseknél és metilmalonsavas aciduriában szenvedő betegnél.

Bár más metabolitoknál nem volt figyelemreméltó fluktuáció, a vizelet hippurát, metilmalonát, metilcitrát és acilkarnitinek jelentős változását észlelték az első 12 óra alatt. A hippurát koncentrációja a beadás után 30 perccel hatszorosára emelkedett. Három óra múlva érte el a csúcst, majd ezután csökkenni kezdett. Ezzel szemben az acilkarnitin excretio 30 perc múlva csak kevesebb, mint kétszeresére emelkedett, de utána 5 órán belül gyors excretio (az alapérték 24-szerese) indult meg. Ahogy az acilkarnitin excretio emelkedett, úgy csökkent progresszíven a metilmalonát és a metilcitrát exkrecio a 30 perces érték 43, ill. 57%-ára. A plazma acilkarnitin analízis ezalatt az acilkarnitin rövid láncú formája koncentrációjának jelentős változását, a karnitin adás előtti 17,1 $\mu\text{mol/L}$ -ről 27,4 $\mu\text{mol/L}$ -re emelkedését mutatta. A szabad karnitin 35,8 $\mu\text{mol/L}$ -ről 66,1 $\mu\text{mol/L}$ -re emelkedett. A hosszú láncú acilkarnitinek plazmakoncentrációjában nem volt változás. Az összefüggés a vizelet acilkarnitinek és a metabolitok, metilmalonát és metilcitrát között 12 óráig tartott, ezalatt a metabolitok szintje a korábbi magas értékre emelkedett, az acilkarnitin excretio pedig csökkent (4. Ábra)

A kiválasztott acilkarnitin szerkezetét tömeg-spectroszkópiával határozták meg. A domináló acilkarnitin a propionil származék volt. Szignifikáns mennyiségben volt jelen az acetyl-karnitin is.

Kezelés:

A betegeknél karnitint adtak orálisan (25mg/kg 6-óránként) 18 hónapig, szövődmény nélkül. Ezalatt nem kellett bikarbonátot adni a metabolikus acidózis korrekciójára. Az első megfigyelések szerint a betegek mozgása ügyesebb lett, a környezettel való kapcsolata és kifejezőkészsége jelentősen javult.



4. Ábra. Metabolitok koncentrációváltozása metilmalonsavas acidúriában szenvedő betegnél egyszeri D,L-carnitine 200 mg/tskg orális dózis után (a nyíl jelöli a beadás időpontját).

Kérdések:

1. Mit jelent a 21 mmol/l-es bázis deficit (anion gap)?
2. Mi az értelme az intramuscularis B₁₂-vitamin injectios kezelésnek?
3. Mi a biokémiai alapja az izoleucin, valin, treonin és metionin bevitt korlátozó diétának?
4. Milyen más tápanyagok válthatják ki a betegséget?
5. Milyen reakciók során szintetizálódik a propionil karnitin?
6. A propionil-CoA inhibitora a trikarboxilsav-ciklusnak, a piruvát dehidrogenáz komplexnek, az N-acetilglutamát szintetáznak és a glicin hasító rendszernek. Magyarázza meg, hogyan függ ez össze a metilmalon-aciduria során észlelhető metabolikus zavarokkal!
7. Az orális karnitin adás hogyan javítja a metilmalon- vagy propion-acidurás beteg állapotát?

Irodalom

1. Siliprandi, N. and Ciman, M. "Carnitine: Transport and Function" *Adv. Clin. Enzymol.* (1986) 4: 93-102.
2. Chapoy, P.R. et al. Systemic carnitine deficiency - A treatable inherited lipid-storage disease presenting as Reye's Syndrome. *New Engl. J. Med.* (1980) 303: 1389-1394.
3. Roe, C.R., et al. Metabolic response to camitine in methylmalonic aciduria. *Arch. Disease Child.* (1983) 58: 916-920.
4. Roe, C.R., et al. L-Camitine enhances excretion of propionyl coenzyme A as propionylcarnitine in propionic acidemia. *J. Clin. Invest.* (1984) 73: 1785-1788.
5. Bieber, LL. Carnitine *Annu. Rev. Biochem.* 1988; 57: 261-283
6. Kerner Janos and Hoppel Charles. Genetic disorders of carnitine metabolism and their nutritional management. *Annu. Rev. Nutr.* 1998; 18: 179-206
7. Rebouche Charles J. Carnitine metabolism and its regulation in microorganisms and mammals. *Annu. Rev. Nutr.* 1998; 18: 39-61