

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS -
BIOQUÍMICA

**EFEITO NEUROPROTETOR, ANTIOXIDANTE E ANTI-INFLAMATÓRIO DA
CARNITINA EM PACIENTES COM DOENÇA DA URINA DO XAROPE DE
BORDO**

JÚLIA GIRARDI

Orientador: Prof^a. Dr^a. Carmen Regla Vargas

PORTO ALEGRE, 2024

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS -
BIOQUÍMICA

**EFEITO NEUROPROTETOR, ANTIOXIDANTE E ANTI-INFLAMATÓRIO DA
CARNITINA EM PACIENTES COM DOENÇA DA URINA DO XAROPE DE
BORDO**

JÚLIA GIRARDI

Orientador: Prof^ª. Dr^ª. Carmen Regla Vargas

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica, do Departamento de Bioquímica do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para obtenção do Grau de Mestre em Bioquímica.

Porto Alegre, 2024

CIP - Catalogação na Publicação

Girardi, Júlia
EFEITO NEUROPROTETOR, ANTIOXIDANTE E
ANTI-INFLAMATÓRIO DA CARNITINA EM PACIENTES COM DOENÇA
DA URINA DO XAROPE DE BORDO / Júlia Girardi. -- 2024.
75 f.
Orientadora: Carmen Regla Vargas.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da
Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências
Biológicas: Bioquímica, Porto Alegre, BR-RS, 2024.

1. Doença da urina do xarope de bordo. 2.
Carnitina. 3. Dano oxidativo. 4. Inflamação. 5.
Neurodegeneração. I. Regla Vargas, Carmen, orient.
II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, professora Carmen Regla Vargas, por me aceitar em seu grupo de pesquisa, pela oportunidade de realizar este trabalho, por todo auxílio, paciência e compreensão.

A todos do Laboratório de Análise de Metabólitos do Serviço de Genética Médica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (SGM/HCPA), em especial à Jéssica, pela parceria de sempre.

A minha família pelo incentivo e apoio incondicional.

Ao Matheus, por todo amor e companheirismo.

Ao Hospital de Clínicas de Porto Alegre e ao SGM/HCPA, que possibilitaram a realização deste trabalho.

Aos pacientes e seus familiares, bem como médicos do SGM/HCPA.

À CAPES pela bolsa concedida.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
1.1 Erros Inatos do Metabolismo.....	10
1.2 Doença da Urina do Xarope de Bordo (“Maple Syrup Urine Disease” - MSUD)	11
1.2.1 Classificação	15
1.2.2 Diagnóstico	155
1.2.3 Manifestações Clínicas	17
1.2.4 Tratamento	19
1.3 Radicais Livres	21
1.3.1 Estresse Oxidativo e MSUD.....	22
1.4 Inflamação.....	24
1.4.1 Inflamação no contexto da MSUD.....	26
1.5 L-Carnitina.....	27
1.6 Neurodegeneração.....	28
2. OBJETIVOS	31
2.1 Objetivo Geral	31
2.2 Objetivos Específicos	31
3. RESULTADOS.....	32
3.1 Artigo.....	33
4. DISCUSSÃO	57
5. CONCLUSÕES GERAIS.....	68
6. REFERÊNCIAS.....	69

LISTA DE ABREVIATURAS

AACR – Aminoácidos de cadeia ramificada

ACCR – alfa-cetoácidos de cadeia ramificada

BCKD – Complexo BCKD (“Branched-Chain Alpha-Keto Acid Dehydrogenase Complex”)

BDNF – Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (“Brain-derived neurotrophic factor”)

EIM – Erros Inatos do Metabolismo

ERN – Espécies Reativas de Nitrogênio

ERO – Espécies Reativas de Oxigênio

MSUD – Doença da Urina do Xarope de Bordo (“Maple Syrup Urine Disease”)

PDGF – Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas (“Platelet-derived growth factor”)

PNTN – Programa Nacional de Triagem Neonatal

RL – Radicais Livres

SNC – Sistema Nervoso Central

SUS – Sistema Único de Saúde

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Rota metabólica dos aminoácidos de cadeia ramificada leucina, isoleucina e valina, indicando em destaque o bloqueio metabólico que ocorre na Doença da Urina do Xarope de Bordo..... 12

Figura 2: Aminoácidos e complexo enzimático de alfa-cetoácidos de cadeia ramificada ("Branched-Chain Alpha-Keto Acid Dehydrogenase Complex" - BCKD).....13

1. INTRODUÇÃO

1.1 Erros Inatos do Metabolismo

Archibald Garrod em 1908 introduziu o termo Erros Inatos do Metabolismo (EIM), ao investigar pacientes com alcaptonúria, uma condição que resulta na excreção de ácido homogentísico na urina, conferindo-lhe uma coloração escura. Garrod observou que essa condição era rara na população em geral, mas comum em membros de uma mesma família (Jimenez-Sanchez; Childs; Valle, 2001). A transmissão hereditária de doenças genéticas pode ocorrer por meio de três padrões distintos: autossômica recessiva, autossômica dominante ou ligada ao cromossomo X (Scriver et al., 2001).

Os EIM são um conjunto de condições genéticas raras que interferem no funcionamento normal do metabolismo no organismo. Essas condições têm origem em mutações nos genes que controlam a produção de enzimas específicas, resultando em uma alteração na capacidade do corpo de metabolizar determinados nutrientes ou substâncias, levando ao acúmulo de produtos metabólicos tóxicos ou à falta na produção de compostos essenciais para o funcionamento saudável do organismo (Brady et al., 2005).

De forma geral, EIM são doenças raras que comprometem o desenvolvimento da criança ao longo da vida. Essas condições podem se manifestar de várias maneiras e afetar diferentes sistemas do corpo, incluindo o sistema nervoso central (SNC), o sistema cardiovascular e outros. Os sintomas podem variar de leves a graves e, em alguns casos, podem ser fatais. O diagnóstico precoce e o tratamento adequado são fundamentais para gerenciar os EIM e minimizar os danos. Tais doenças podem ser diagnosticadas e rastreadas através da triagem neonatal, pois sabe-se que a grande maioria dos recém nascidos não apresenta sintomas físicos das doenças e, quando assintomáticos, a doença pode apenas evoluir se não tratada adequadamente (Tada et al., 2013).

A recomendação dos EIM envolve tratamento dietético restrito, suplementação de nutrientes essenciais, medicamentos e, em alguns casos, transplantes de órgãos. O tratamento visa prevenir crises metabólicas, minimizar

danos e melhorar a qualidade de vida dos pacientes (Saudubray; Baumgartner; Walter, 2016).

Os EIM são classificados em três grupos principais com base no metabolismo afetado (Saudubray; Baumgartner; Walter, 2016):

1. Distúrbios de síntese ou degradação de moléculas complexas: como por exemplo, as doenças de depósito lisossômico e as doenças peroxissomais.
2. Doenças com déficit de energia: como as doenças de depósito de glicogênio, defeitos da gliconeogênese, defeitos na oxidação de ácidos graxos e defeitos mitocondriais ou de cadeia respiratória.
3. Erros inatos do metabolismo intermediário: onde se incluem as aminoacidopatias, acidemias orgânicas, defeitos do ciclo da ureia e intolerâncias aos açúcares.

1.2 Doença da Urina do Xarope de Bordo (“Maple Syrup Urine Disease” - MSUD)

A MSUD, também conhecida como leucinose, é um EIM dos aminoácidos de cadeia ramificada (AACR), leucina, isoleucina e valina e seus correspondentes cetoácidos.

Ela é causada por uma deficiência na atividade da enzima desidrogenase dos α -cetoácidos de cadeia ramificada (BCKD), que é responsável por metabolizar esses aminoácidos (Figura 1).

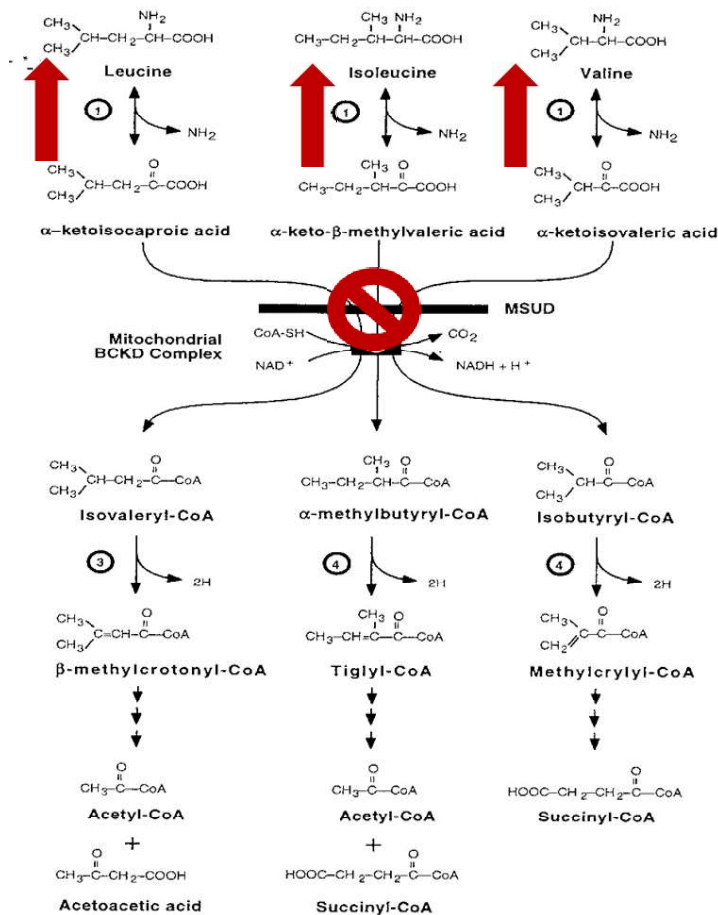


Figura 1. Rota metabólica dos aminoácidos de cadeia ramificada leucina, isoleucina e valina, indicando em destaque o bloqueio metabólico que ocorre na Doença da Urina do Xarope de Bordo. (Adaptado de Scriver et al., 2001).

O complexo BCKD consiste em três componentes catalíticos: diidrolipoamida transacilase de cadeia ramificada (E2) que se liga a múltiplas subunidades de BCKA, desidrogenase/descarboxilase (E1) e diidrolipoamida desidrogenase (E3). O componente catalítico E1 se forma como um heterotetrâmero das subunidades E1α e E1β no complexo BCKD. O genótipo MSUD foi descrito na subunidade catalítica do complexo BCKD, onde para o tipo 1A (OMIM # 608348), as mutações ocorrem no gene BCKDA (subunidade E1α); e para tipo 1B (OMIM# 248611) especificamente. Para mutações encontradas no gene BCKDB (subunidade E1β), e para o tipo II (OMIM# 248610), mutações que afetam o gene DBT (subunidade E2) e tipo III (OMIM # 238331) para

mutações que ocorrem no gene DLD (subunidade E3) (Ali, E. Z. and Ngu, L. 2018).

Em suma, uma mutação em qualquer um desses genes pode levar à deficiência da atividade da enzima BCKD, resultando no acúmulo de leucina, isoleucina e valina no sangue e de seus α -cetoácidos de cadeia ramificada correspondentes na urina, característica da MSUD (Scriver, 2001; Herber *et al.*, 2015; Medina *et al.*, 2021; Saudubray; Baumgartner; Walter, 2016). (Figura 2).

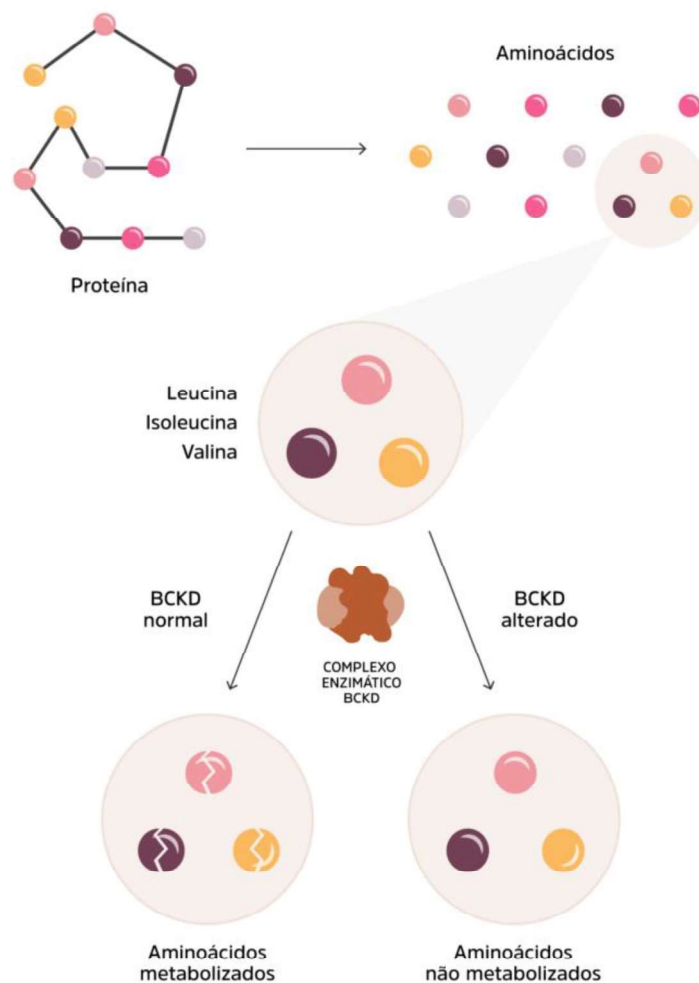


Figura 2: Aminoácidos e complexo enzimático de alfa-cetoácidos de cadeia ramificada ("Branched-Chain Alpha-Keto Acid Dehydrogenase Complex" - BCKD).

Fonte: Gomes, 2022.

A doença foi descrita inicialmente por John Menkes e colaboradores (1954) em Boston, EUA. Em uma família com quatro filhos, com dois deles falecidos com cerca de três meses de idade, após apresentarem quadro neurológico degenerativo que se iniciou na primeira semana de vida, foi realizada a identificação da doença. Na quarta criança com sintomas neurológicos degenerativos e convulsões, ao procurar atendimento médico, foi constatado odor adocicado característico na urina, comparado ao cheiro do xarope de bordo, dando nome a doença (Menkes; Sarnat; Maria, 2006).

Ao analisar as amostras de urina deste paciente, observou-se altas concentrações de cetoácidos de cadeia ramificada, o que levou Menkes a sugerir que a doença poderia ser resultado de falhas na via dos AACR, contando também com a identificação de altas concentrações séricas desses aminoácidos, em estudo dirigido por Westall e colaboradores (1957). Menkes observou que esses aminoácidos provavelmente compartilhavam a mesma via de degradação, tendo em vista que o aumento observado era dos três cetoácidos (Menkes; Sarnat; Maria, 2006).

A deficiência do complexo BCKAD nos pacientes foi confirmada em 1960, a partir de estudo de atividades em leucócitos e a restrição rigorosa de AACR na dieta foi proposta como forma de tratamento em 1964 (Dancis; Hutzler; Levitz, 1960; Smyderman et al., 1964)

Os sintomas da MSUD podem variar em gravidade, desde formas leves até formas mais graves e potencialmente fatais (Hauschild et al., 2019; Herber et al., 2015; Medina et al., 2021; Saudubray; Baumgartner; Walter, 2016; Ewing et al., 2021). A doença é considerada uma doença rara cuja incidência é geralmente relatada em termos de nascimentos afetados por ano em relação à população total. Nos Estados Unidos, por exemplo, a incidência estimada da doença é de cerca de 1 em 185.000 nascimentos. É importante observar que a doença é mais comum em populações onde há maior consanguinidade, ou seja, casamentos entre parentes próximos (Scriver, 2001; Lee; Chau, 2002; Herber et al., 2015; Medina et al., 2021; Saudubray; Baumgartner; Walter, 2016; Lee; Chau, 2002). No Brasil, por sua vez, não existem dados a respeito da prevalência

da doença, com estimativa de incidência de 1:100.000 nascidos vivos (Herber *et al.*, 2015; Medina *et al.*, 2021; Saudubray; Baumgartner; Walter, 2016).

1.2.1 Classificação

A doença se apresenta em cinco formas e/ou subtipos: clássica, intermediária, intermitente, sensível à tiamina e deficiente na subunidade E3 (Tabela 1). Os subtipos se diferenciam de acordo com a apresentação clínica, idade inicial dos sintomas e nível de atividade do complexo BCKD (complexo envolvido na metabolização dos aminoácidos de cadeia ramificada).

Tabela 1. Classificação da MSUD

Fenótipo clínico	Manifestações clínicas	Atividade enzimática
Clássica	Dificuldade de alimentação, letargia, hipoglicemia cetoacidose, alterações neurológicas, convulsões, coma.	0-2%
Intermediária	Atraso no desenvolvimento físico e psicomotor, cetoacidose pouco frequente.	0-30%
Intermitente	Episódios de ataxia / cetoacidose precipitado por infecções.	5-20%
Responsivo a tiamina	Similar a forma intermediária.	2-40%
Deficiência de E3	Sem sintomas neonatais, hipotonia, acidose láctica, atraso no desenvolvimento.	0-25%

(Adaptado de Chuang e Shih, 2001)

1.2.2 Diagnóstico

O diagnóstico da MSUD geralmente é realizado por meio de testes de triagem neonatal, que detectam níveis elevados de AACR no sangue do recém-nascido. Confirmação diagnóstica pode ser feita através de testes laboratoriais específicos para avaliar a atividade da enzima BCKD ou análise genética para identificar mutações nos genes relacionados à doença (Hauschild *et al.*, 2019; Herber *et al.*, 2015; Medina *et al.*, 2021; Saudubray; Baumgartner; Walter, 2016).

Este diagnóstico é realizado em amostra de sangue coletada por punção capilar no calcâneo do neonato e é importante ressaltar que quanto antes realizado o diagnóstico, preferencialmente antes das duas primeiras semanas

de vida, é possível prevenir danos cerebrais irreversíveis. Diante disto, a triagem neonatal para MSUD está incluída em programas da “Newborn Screening” (EUA), mas no Brasil, a doença ainda não é rastreada pelo Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), também conhecido como Teste do Pezinho (Ministério da Saúde, 2016; (Hauschild *et al.*, 2019; Herber *et al.*, 2015; Medina *et al.*, 2021; Saudubray; Baumgartner; Walter, 2016; Ewing *et al.*, 2021).

Neste ponto, devemos ressaltar o importante papel do Teste do Pezinho, disponibilizado pelo Sistema Único de Saúde do Brasil (SUS), de forma gratuita, pois é ele o responsável por detectar precocemente diversas doenças congênitas ou hereditárias que podem não ser evidentes no momento do nascimento, mas que podem causar sérios danos à saúde se não forem tratadas precocemente. As doenças englobadas no Teste do Pezinho podem variar de acordo com as políticas de saúde de cada país e região, sendo que no PNTN oferecido pelo Ministério da Saúde para o Brasil, estão incluídas as seguintes doenças: Fenilcetonúria, Hipotireoidismo Congênito, Doença Falciforme e outras hemoglobinopatias, Fibrose Cística, Hiperplasia Adrenal Congênita e Deficiência de Biotinidase (Ministério da Saúde, 2016; Ministério da Saúde, 2010).

A Lei nº 14.154/2021, alterou o Estatuto da Criança e do Adolescente, para aperfeiçoar o PNTN, por meio do estabelecimento de um rol mínimo de doenças a serem rastreadas pelo Teste do Pezinho (Ministério da Saúde, 2021). Ela estabelece que os testes para o rastreamento de doenças no recém-nascido serão disponibilizados de forma escalonada, de acordo com a seguinte ordem de progressão, incluindo a aminoacidopatia MSUD:

I – etapa 1:

- a) fenilcetonúria e outras hiperfenilalaninemias;
- b) hipotireoidismo congênito;
- c) doença falciforme e outras hemoglobinopatias;
- d) fibrose cística;
- e) hiperplasia adrenal congênita;

- f) deficiência de biotinidase;
- g) toxoplasmose congênita;

II – etapa 2:

- a) galactosemias;
- b) aminoacidopatias;
- c) distúrbios do ciclo da ureia;
- d) distúrbios da beta oxidação dos ácidos graxos;

III – etapa 3: doenças lisossômicas;

IV – etapa 4: imunodeficiências primárias;

V – etapa 5: atrofia muscular espinhal.

1.2.3 Manifestações Clínicas

As manifestações clínicas da MSUD podem variar de acordo com a gravidade do distúrbio e a idade do paciente, como características clínicas da doença podemos citar (Scriver et al. 2001; Barschak *et al.*, 2006 ; Herber *et al.*, 2015; Medina *et al.*, 2021; Saudubray; Baumgartner; Walter, 2016 ; Herber *et al.*, 2015; Medina *et al.*, 2021; Saudubray; Baumgartner; Walter, 2016 ; Barschak *et al.*, 2008; Lee; Chau, 2002):

- Odor característico: este é o principal sintoma da MSUD e pode ser detectado na urina, no suor e no hálito do paciente.
- Dificuldades alimentares: pacientes afetados pela MSUD podem apresentar dificuldades para se alimentar, sucção fraca e irritabilidade durante a alimentação.
- Letargia e sonolência: indivíduos com MSUD podem apresentar sonolência excessiva, letargia e falta de energia.
- Vômitos frequentes: vômitos recorrentes podem ocorrer devido ao acúmulo de aminoácidos e seus metabólitos no organismo.

- Irritabilidade e comportamento incomum: os bebês podem mostrar irritabilidade, choro excessivo e comportamento incomum.
- Convulsões: a MSUD pode levar ao desenvolvimento de convulsões devido ao acúmulo de metabólitos tóxicos no cérebro.
- Atraso no desenvolvimento: se não tratada, a MSUD pode resultar em atraso no desenvolvimento, incluindo atrasos no desenvolvimento psicomotor, cognitivo e psicossocial.
- Hipotonia muscular: ou baixo tônus muscular, pode ser observada em bebês afetados pela doença.
- Problemas neurológicos: complicações neurológicas, como movimentos involuntários, rigidez muscular e posturas anormais, podem ocorrer em casos graves não tratados.
- Opistótono: também conhecido como rigidez muscular, é uma manifestação comum na MSUD.
- Hipoglicemia: é uma característica proeminente na MSUD. Se caracterizando por baixos níveis baixos de glicose no sangue em crises metabólicas.
- Cetoacidose: outra complicação comum na MSUD. Quando o organismo não consegue metabolizar adequadamente os AACR e seus cetoácidos correspondentes eles se acumulam podendo levar à acidose metabólica.
- Apneia/dispneia: A apneia (interrupção da respiração) e a dispneia (dificuldade para respirar) podem ocorrer em pacientes com MSUD devido a complicações neurológicas associadas à doença, como edema cerebral ou alterações no controle respiratório. Esses sintomas podem ser graves e exigem intervenção médica imediata.

É importante ressaltar que a gravidade e a variedade dos sintomas podem variar de acordo com a idade do paciente, a gravidade da deficiência enzimática e a eficácia do tratamento. O diagnóstico precoce e o tratamento adequado são essenciais para prevenir complicações graves e melhorar o prognóstico dos pacientes com MSUD.

1.2.4 Tratamento

O tratamento da MSUD envolve uma dieta especial, além de suplementação com fórmulas semissintéticas isentas dos AACR, que fornecem os nutrientes necessários para o crescimento e desenvolvimento adequados. Monitoramento frequente dos níveis sanguíneos de aminoácidos e ajuste da dieta são essenciais para prevenir crises metabólicas e complicações neurológicas (Margutti *et al.*, 2020).

O tratamento deve iniciar imediatamente após o diagnóstico e ocorre por fases. Quando na fase aguda da doença, necessita de uma rápida redução plasmática dos AACR. Na fase de manutenção, o tratamento consiste em dieta hipercalórica e hipoproteica e fórmula semissintética de aminoácidos (Herber *et al.*, 2015; Medina *et al.*, 2021; Saudubray; Baumgartner; Walter, 2016; Barschak *et al.*, 2008; Lee; Chau, 2002; Scriver, 2001). Os pacientes geralmente precisam aderir à dieta especial ao longo da vida para evitar complicações graves. O acompanhamento médico regular também é necessário para monitorar o estado metabólico do paciente e ajustar o tratamento conforme necessário (Herber *et al.*, 2015; Medina *et al.*, 2021; Saudubray; Baumgartner; Walter, 2016).

A L-carnitina é um composto químico natural, que está presente na fórmula semissintética disponibilizada como tratamento dietético para pacientes com MSUD e que desempenha um papel importante no metabolismo de ácidos graxos. Ela atua facilitando o transporte de ácidos graxos de cadeia longa para as mitocôndrias, onde são oxidados para produzir energia, sendo assim, a carnitina é essencial para o funcionamento normal do organismo (Alhasaniah, 2023). Sua suplementação tem sido explorada para ajudar a melhorar o metabolismo dos AACR e reduzir os sintomas da MSUD. A L-carnitina pode facilitar o transporte dos compostos acumulados para as mitocôndrias, onde podem ser metabolizados de forma mais eficaz. No entanto, a eficácia da suplementação de carnitina pode variar de pessoa para pessoa, e seu uso deve ser supervisionado por um médico especializado em distúrbios metabólicos (Mescka *et al.*, 2015).

O tratamento agudo, que visa proteger o cérebro contra danos irreversíveis, se baseia na eliminação de metabólitos tóxicos, reduzindo o

catabolismo e promovendo o anabolismo. A ausência de intervenção precoce e eficaz pode resultar em danos cerebrais permanentes ou até mesmo em óbito. É crucial realizar procedimentos imediatos que facilitem a eliminação dos metabólitos. Os métodos disponíveis incluem depuração exógena, como transfusão sanguínea prolongada, diálise peritoneal, hemodiálise intermitente, hemofiltração e/ou depuração endógena, acompanhados pelo início de nutrição entérica rica em carboidratos, lipídios e fórmula isenta de AACRs (Blackburn *et al.*, 2017; Borch *et al.*, 2012; Mescka *et al.*, 2015).

No tratamento a longo prazo, o controle metabólico também é um dos principais objetivos, sendo crucial otimizar a nutrição proteica para assegurar um crescimento saudável. O alcance desses objetivos dependerá da tolerância individual do paciente, a qual é influenciada por diversos fatores, com destaque para o genótipo. Além da influência genética, outros elementos, como o estado de saúde, condição socioeconômica e desafios no processo de aceitação da alimentação, também desempenham um papel significativo (Bernstein; Rohr; Van Calcar, 2022; Sinha *et al.*, 2018; Smith; Koeberl, 2019).

Uma alternativa de tratamento é o transplante hepático, especialmente para pacientes com formas graves da doença que não respondem adequadamente ao tratamento convencional. Neste procedimento, um novo fígado funcional é transplantado para substituir o fígado doente, que é incapaz de metabolizar adequadamente os AACR. Entende-se que o transplante hepático pode proporcionar uma fonte saudável de enzimas necessárias para metabolizar os AACR, reduzindo assim os níveis tóxicos desses aminoácidos no organismo. No entanto, existem riscos associados ao transplante, incluindo complicações cirúrgicas, rejeição do órgão transplantado e a necessidade de terapia imunossupressora contínua (Mazariegos *et al.*, 2014; Strauss *et al.*, 2020; Baştürk *et al.*, 2018).

Outro tipo de tratamento para MSUD é a terapia gênica, uma abordagem inovadora que visa corrigir a causa subjacente da MSUD, ou seja, a deficiência na atividade da enzima BCKD. Trata-se da introdução de genes funcionais em células do paciente para restaurar a produção normal da enzima ausente ou deficiente. Acredita-se que a terapia gênica pode potencialmente corrigir a

deficiência enzimática nas células do fígado, permitindo assim o metabolismo adequado dos AACR. No entanto, a terapia gênica ainda está em estágios iniciais de pesquisa e desenvolvimento, e são necessários mais estudos para avaliar sua segurança e eficácia em pacientes com MSUD (Simon; Schwarz; Wendel, 2007; Greig *et al.*, 2021). Além disso, desafios técnicos, como a entrega eficaz dos genes terapêuticos às células-alvo e a regulação adequada da expressão gênica, precisam ser superados antes que a terapia gênica possa ser amplamente utilizada como tratamento para a MSUD.

Por fim, vale ressaltar que dentre as várias complicações e sequelas que a MSUD não tratada pode provocar, a mais visível a longo prazo é o atraso no desenvolvimento neuropsicomotor, pois a doença afeta o SNC devido ao acúmulo tóxico dos níveis dos AACR (leucina, isoleucina e valina) e seus metabólitos no cérebro, causando danos neuronais e disfunção neurológica.

1.3 Radicais Livres

Radical livres (RL) são átomos, moléculas ou íons que possuem um elétron não emparelhado em sua última camada eletrônica, tornando-os altamente reativos e instáveis. Essa característica faz com que os RL sejam capazes de reagir rapidamente com outras moléculas em seu ambiente, causando danos celulares (Sies, 2014; Halliwell; Gutteridge, 2015).

Os RL são produzidos como subprodutos naturais do metabolismo celular, mas também podem ser gerados em resposta a fatores externos, como poluição ambiental, radiação ultravioleta, tabagismo e dieta inadequada. Eles desempenham um papel importante em processos biológicos normais, como a resposta imunológica e a sinalização celular (Halliwell; Gutteridge, 2015). No entanto, quando os RL estão presentes em excesso ou não são neutralizados eficientemente pelo sistema antioxidante do organismo, podem causar danos às células, lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, contribuindo para o desenvolvimento de doenças e o envelhecimento celular (Halliwell; Gutteridge, 2015).

Para neutralizar os RL e proteger as células contra danos oxidativos, o organismo possui um sistema antioxidante composto por enzimas como a

superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase, além de compostos antioxidantes como as vitaminas C e E, o beta-caroteno, o selênio e a glutathione. Estes antioxidantes ajudam a estabilizar os RL, prevenindo assim danos celulares excessivos (Sies, 2014; Halliwell; Gutteridge, 2015; Liguori *et al.*, 2018).

As espécies reativas de oxigênio (EROs) e de nitrogênio (ERNs) são compostos altamente reativos que contêm átomos de oxigênio ou nitrogênio com elétrons desemparelhados em sua estrutura molecular. São produzidas naturalmente no organismo como subprodutos do metabolismo celular normal, mas também podem ser geradas em excesso em resposta ao estresse ambiental, como radiação ultravioleta, poluentes atmosféricos, tabagismo e certos medicamentos (Halliwell; Gutteridge, 2015).

Em equilíbrio, as EROs e ERNs desempenham papéis importantes na regulação do metabolismo celular e na defesa imunológica. No entanto, quando sua produção excede a capacidade antioxidante do organismo para neutralizá-las, ocorre o estresse oxidativo, que está associado a uma série de doenças crônicas e degenerativas. Portanto, é essencial o equilíbrio entre a produção e o metabolismo dessas espécies (Sies, 2014; Halliwell; Gutteridge, 2015).

A relação entre estresse oxidativo e EIM é descrita na literatura e destaca a importância de compreendermos melhor os mecanismos subjacentes a essas condições que podem fornecer insights valiosos para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes.

1.3.1 Estresse Oxidativo e MSUD

Na MSUD, o estresse oxidativo pode desempenhar um papel significativo na fisiopatologia podendo ser devido ao acúmulo de metabólitos tóxicos, como o AACRs. A elevação dos níveis desses aminoácidos, especialmente a leucina, pode levar à produção excessiva de RL e EROs. Esses RL podem causar danos oxidativos às células e aos tecidos, contribuindo para o estresse oxidativo (Pena; Burton; Medina, 2012; Amaral; Wajner, 2022).

O dano oxidativo pode ser exacerbado pela diminuição dos níveis de antioxidantes endógenos no organismo devido à sobrecarga metabólica e às

complicações associadas à MSUD, como distúrbios hepáticos e neurológicos. Como resultado, os pacientes com MSUD podem estar em maior risco de danos celulares, o que pode contribuir para a progressão da doença e suas complicações (Pena; Burton; Medina, 2012).

Cientificamente, nas últimas décadas, muito tem se falado e estudado sobre o papel dos RL na fisiopatologia de diversas doenças que afetam seres humanos. Estudos já evidenciaram o papel do estresse oxidativo, que é caracterizado pelo desequilíbrio entre as defesas antioxidantes e substâncias pró-oxidantes no organismo, sendo possível verificar a ação do desequilíbrio na fisiopatogenia de alguns EIM, entre eles, as aminoacidopatias, uma vez que o acúmulo de substâncias tóxicas que acontece nessas doenças pode levar a um aumento excessivo na produção de espécies reativas (Halliwell; Gutteridge, 2015; Mescka *et al.*, 2014).

O estudo de Barschak e colaboradores (2009) analisou as concentrações plasmáticas de aminoácidos e metabólitos em pacientes MSUD em comparação com controles saudáveis. Os resultados mostraram um aumento significativo nas concentrações de leucina, isoleucina, valina e aloisoleucina em pacientes com MSUD, enquanto as concentrações de triptofano e metionina foram significativamente reduzidas em comparação com o grupo de controle. Além disso, os níveis de peroxidação lipídica, medidos pelo TBARS, foram marcadamente aumentados em pacientes com MSUD. Uma correlação inversa significativa foi encontrada entre os valores de TBARS e as concentrações de metionina e triptofano. O estudo também investigou a relação entre os níveis plasmáticos de triptofano e metionina e os níveis de TBARS em diferentes momentos do tratamento, observando que os TBARS aumentaram significativamente quando os pacientes apresentavam baixos níveis de triptofano e metionina. Esses resultados sugerem uma associação entre o desequilíbrio de aminoácidos e a peroxidação lipídica na MSUD, destacando a importância do manejo metabólico na doença (Barschak *et al.*, 2009).

Já no estudo de Mescka e colaboradores (2015), foram investigados os efeitos da suplementação de carnitina nos marcadores de estresse oxidativo em pacientes com MSUD. Os resultados revelaram que os níveis de carnitina

estavam significativamente reduzidos em pacientes com MSUD antes da suplementação em comparação com os controles, e que a suplementação conseguiu reverter essa deficiência. Foi observado um aumento no malondialdeído (MDA), um indicador de lipoperoxidação, em pacientes com MSUD antes da suplementação com L-carnitina, porém a terapia foi capaz de reduzir esse processo, restaurando os níveis ao patamar dos controles. Adicionalmente, uma correlação negativa significativa foi encontrada entre os níveis de L-carnitina e o conteúdo de MDA em pacientes com MSUD tratados, indicando uma associação entre a suplementação deste composto e a redução do estresse oxidativo. Também foi constatado que o teor de carbonila, um marcador de dano oxidativo em proteínas, estava significativamente elevado em pacientes com MSUD em comparação com os controles, sugerindo um aumento do dano proteico. No entanto, a suplementação com L-carnitina não teve efeito sobre o conteúdo de carbonila. Esses resultados indicam que a L-carnitina pode ser benéfica na redução da lipoperoxidação em pacientes com MSUD, embora não pareça influenciar o dano oxidativo em proteínas (Mescka *et al.*, 2015).

Ainda, Mescka e colaboradores (2015) também realizaram um estudo em modelo animal quimicamente induzido de MSUD. Os resultados mostraram elevação significativa dos níveis de AACR no plasma e no cérebro, além de aumento nos produtos de peroxidação lipídica no córtex cerebral e cerebelo. O dano oxidativo em proteínas também foi observado no cerebelo, acompanhado por diminuição nos níveis de glutathione reduzida (GSH) no córtex cerebral. A administração crônica de AACR também aumentou a produção EROS e a atividade das enzimas antioxidantes catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) no córtex cerebral. No entanto, o tratamento com L-carnitina reverteu esses efeitos, prevenindo o estresse oxidativo e a alteração das enzimas antioxidantes no cérebro (Mescka *et al.*, 2016).

1.4 Inflamação

A inflamação é uma resposta do sistema imunológico do corpo a lesões, infecções, irritações ou outros estímulos nocivos. Ela é caracterizada por uma série de eventos bioquímicos e celulares que visam reparar tecidos danificados,

destruir agentes patogênicos invasores e restaurar a homeostase (Murphy, 2014). Os sinais clássicos da inflamação incluem calor, vermelhidão, inchaço, dor e perda de função no local afetado. Esses sintomas são mediados por substâncias químicas liberadas pelos tecidos danificados ou células do sistema imunológico, incluindo histamina, prostaglandinas, citocinas e fatores de crescimento (Abbas; Lichtman; Pillai, 2017). A manifestação pode ser aguda ou crônica, dependendo da duração e da natureza do estímulo desencadeador. A inflamação aguda é uma resposta rápida e de curto prazo, destinada a eliminar a causa do dano e iniciar o processo de cicatrização. Por outro lado, a inflamação crônica pode persistir por semanas, meses ou mesmo anos, e está associada a condições de saúde crônicas, como doenças cardiovasculares, diabetes, artrite e câncer (Hotamisligil, 2017).

O processo inflamatório e o estresse oxidativo são processos interconectados que desempenham papéis importantes em diversas condições de saúde. Durante a inflamação, ocorre a liberação de mediadores químicos, como citocinas, prostaglandinas e EROs (García; Zazueta; Aguilera-Aguirre, 2017). A relação entre inflamação e estresse oxidativo é bidirecional e complexa. Por um lado, a inflamação pode desencadear a produção de EROs como parte da resposta imune, os quais podem contribuir para o dano tecidual durante processos inflamatórios. Por outro lado, o estresse oxidativo pode ativar vias de sinalização inflamatória e promover a produção de citocinas pró-inflamatórias, perpetuando assim o estado inflamatório (Ghasemzad et al., 2022). Além disso, o estresse oxidativo pode comprometer a função dos sistemas antioxidantes endógenos do corpo, tornando as células mais suscetíveis ao dano oxidativo e à inflamação crônica (Sies, 2014; Sies, 2015).

Nos EIM, a inflamação pode desempenhar um papel significativo, embora não seja um componente central de todas as condições. Os EIM são distúrbios genéticos que afetam enzimas específicas envolvidas no metabolismo de carboidratos, lipídios, proteínas ou outras substâncias essenciais. Dependendo da natureza do EIM e da via metabólica afetada, a inflamação pode surgir como resultado de vários mecanismos (Freyberg et al., 2022). Alguns EIM estão associados a um aumento do estresse oxidativo, que por sua vez pode causar danos às células e tecidos, desencadeando uma resposta inflamatória como

parte do processo de reparo (Vernon, 2015). Os EIM podem afetar o sistema imunológico, levando a uma resposta inflamatória inadequada. Ainda, algumas complicações secundárias, como danos teciduais, infecções ou distúrbios do sistema imunológico, podem levar à inflamação como parte do processo de reparo ou resposta à lesão.

Por fim, embora a inflamação nem sempre seja uma característica proeminente de todos os EIM, ela pode surgir como resultado de vários mecanismos subjacentes e o entendimento da interação entre inflamação e EIM é crucial para o manejo e tratamento eficazes dessas condições.

1.4.1 Inflamação no contexto da MSUD

Na MSUD, a inflamação pode desempenhar um papel significativo devido ao acúmulo de metabólitos tóxicos, como os AACRs. A elevação dos níveis desses aminoácidos, especialmente a leucina, pode desencadear uma resposta inflamatória nos tecidos afetados (Solares *et al.*, 2021).

O acúmulo de AACRs pode causar lesão direta aos tecidos, levando à ativação de células imunes e à liberação de mediadores inflamatórios. Esse acúmulo de AACRs também pode ativar vias inflamatórias intracelulares, como o NF- κ B, levando à expressão de genes pró-inflamatórios e à produção de citocinas inflamatórias (Strauss *et al.*, 2006).

Ainda, o aumento dos níveis de leucina na MSUD pode resultar em estresse oxidativo, onde EROs são produzidas em excesso. Isso pode danificar as células e ativar vias inflamatórias. A MSUD também está associada à disfunção mitocondrial, o que pode aumentar a produção de EROs e a liberação de citocinas pró-inflamatórias (Pena; Burton; Medina, 2012).

Esses processos inflamatórios podem contribuir para as manifestações clínicas e o dano tecidual observados na MSUD, como danos cerebrais, disfunção hepática, muscular e tecidual, e potencialmente afetar o prognóstico da doença (Scriver, 2001).

1.5 L-carnitina

A L-carnitina, uma molécula essencial para o metabolismo energético celular, desempenha um papel fundamental no transporte de ácidos graxos de cadeia longa para dentro das mitocôndrias, onde são oxidados para gerar energia. Esse composto é sintetizado principalmente no fígado e nos rins a partir dos aminoácidos lisina e metionina, com a participação de vitaminas C, B6 e niacina (Alhasaniah, 2023; Cruciani *et al.*, 2004). Além de seu papel no metabolismo lipídico, a carnitina também tem propriedades antioxidantes e pode ajudar a proteger as células contra o estresse oxidativo. Esta molécula está envolvida na regulação do equilíbrio energético e no transporte de subprodutos metabólicos tóxicos para fora das mitocôndrias, ajudando a manter a homeostase celular (Noland *et al.*, 2009)

A L-carnitina é encontrada em alimentos de origem animal, como carne vermelha, aves, peixe e laticínios. Além disso, está disponível como suplemento dietético e é comercializada em várias formas, incluindo L-carnitina e acetil-L-carnitina (Jones; Mcdonald, 2021).

Suplementação com L-carnitina tem sido estudada em uma variedade de condições clínicas, incluindo distúrbios metabólicos, doenças cardíacas, neuropatias e doenças musculares. Pacientes portadores de EIM em tratamento sob restrição proteica costumam apresentar deficiência de carnitina livre (Faverzani *et al.*, 2023). A suplementação com L-carnitina para pacientes com MSUD ajuda a melhorar a capacidade de degradação dos AACR, reduzindo assim os níveis tóxicos desses aminoácidos no organismo. Dito isto, é necessário ressaltar que a L-carnitina está presente na fórmula semissintética oferecida aos pacientes com MSUD em tratamento dietético (Almannai; Alfadhel; El-Hattab, 2019). Neste contexto, sabe-se que a L-carnitina também pode ajudar a proteger o cérebro contra os efeitos nocivos dos AACR em excesso, facilitando a remoção desses aminoácidos do SNC. Portanto, sua suplementação desempenha um papel importante no tratamento da MSUD, ajudando a prevenir o acúmulo de metabólitos tóxicos e reduzindo o risco de danos cerebrais irreversíveis associados à doença (Alhasaniah, 2023; Cruciani *et al.*, 2004).

1.6 Neurodegeneração

A neurodegeneração em pacientes com MSUD é uma complicação grave e potencialmente debilitante da doença. O acúmulo de leucina, em particular, pode ser neurotóxico, interferindo no metabolismo cerebral normal e levando à morte celular no SNC. A toxicidade dos AACRs pode afetar várias regiões do cérebro, incluindo o córtex cerebral, o cerebelo e os gânglios da base. Ainda, o aumento dos níveis de leucina na MSUD pode afetar o equilíbrio dos neurotransmissores no cérebro, incluindo o glutamato e o GABA, que desempenham papéis importantes na regulação da excitabilidade neuronal e na função cognitiva. Por sua vez, o acúmulo de AACRs e a disfunção metabólica associada na MSUD podem levar ao estresse oxidativo no cérebro, resultando em danos oxidativos às células neurais e contribuindo para a neurodegeneração (Chuang, 2013; Frazier *et al.*, 2014; Strauss; Morton, 2003).

A neurodegeneração na MSUD pode se manifestar como atraso no desenvolvimento neuropsicomotor, comprometimento cognitivo, convulsões, ataxia, distonia e outras anormalidades neurológicas (Campanholi *et al.*, 2021; de Lonlay *et al.*, 2021).

O Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (“Brain-derived neurotrophic factor” – BDNF) é um componente da família de proteínas conhecidas como neurotrofinas, desempenhando um papel fundamental no desenvolvimento e fisiologia do sistema nervoso. Além disso, ele está envolvido em processos relacionados à plasticidade cerebral, como memória e aprendizado (Nagahara; Tuszynski, 2011). O BDNF desempenha um papel vital no crescimento, diferenciação e sobrevivência de neurônios durante o desenvolvimento embrionário e pós-natal. Ele atua como um fator de crescimento para neurônios, promovendo sua sobrevivência e crescimento (Binder, 2004).

Uma das funções mais importantes do BDNF é sua participação na plasticidade sináptica, que é a capacidade do cérebro de remodelar e fortalecer as conexões entre os neurônios em resposta à atividade neural. O BDNF é liberado em resposta à atividade neural e ajuda a fortalecer as sinapses, facilitando a comunicação entre os neurônios. Isso desempenha um papel crucial em processos como aprendizado e memória (Reichardt, 2006).

O BDNF pode ajudar a proteger os neurônios contra danos causados por estresse oxidativo, inflamação e outros insultos (Park; Poo, 2013). Também está envolvido na regulação de estados emocionais e no funcionamento do SNC. Alterações nos níveis de BDNF têm sido associadas a distúrbios psiquiátricos, como depressão, ansiedade e transtorno bipolar, bem como na doença de Alzheimer, na doença de Parkinson e na esclerose lateral amiotrófica (ELA). Nesses distúrbios, os níveis de BDNF podem estar reduzidos, o que pode contribuir para a degeneração neuronal e progressão da doença (Martinowich; Lu, 2008; Fernandes et al., 2015).

Em resumo, o BDNF é uma proteína essencial para a função e sobrevivência dos neurônios, bem como para a plasticidade sináptica e regulação emocional. Seus efeitos abrangentes no SNC o tornam uma molécula de grande interesse na pesquisa neurocientífica e no desenvolvimento de novas terapias para uma variedade de condições neurológicas e psiquiátricas (Autry; Monteggia, 2012). Embora ainda haja muito a ser compreendido sobre a interação entre o BDNF e a MSUD, o estudo dessa relação pode fornecer insights importantes sobre os mecanismos subjacentes à doença e potenciais alvos terapêuticos para melhorar os aspectos neurológicos e cognitivos em pacientes com MSUD.

O Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas (“Platelet-derived growth factor” - PDGF) é uma proteína essencial que desempenha um papel fundamental no processo de cicatrização de feridas e na regulação do crescimento celular (Andrae; Gallini; Betsholtz, 2008). O PDGF é uma família de proteínas que inclui diferentes isoformas (PDGF-A, PDGF-B, PDGF-C e PDGF-D), as quais desempenham papéis variados na proliferação, migração e sobrevivência celular. Ele é produzido principalmente pelas plaquetas no sangue, bem como por outras células, como células endoteliais, fibroblastos e células musculares lisas. O PDGF desempenha um papel crucial na angiogênese, regulação da função celular e regeneração de tecidos (Ross; Raines, 1993).

No SNC, o PDGF é expresso em neurônios, astrócitos, oligodendrócitos e células vasculares, e está envolvido na interação entre SNC e células

vasculares na manutenção da barreira hematoencefálica. Durante lesão ou estresse é importante para excitabilidade neuronal, afetando a plasticidade sináptica (Dirkes et al., 2020).

O triptofano é um aminoácido essencial, o que significa que o organismo humano não pode produzi-lo e, portanto, deve ser obtido através da dieta. É um dos 20 aminoácidos comuns encontrados em proteínas e desempenha papéis fundamentais em várias funções corporais (Fernstrom, 2013; Xue et al., 2023). Este aminoácido é o precursor primário da serotonina, um neurotransmissor importante envolvido na regulação do humor, sono, apetite e outras funções cerebrais. Portanto, níveis adequados de triptofano na dieta são essenciais para a produção adequada de serotonina. Baixos níveis de triptofano na dieta podem estar relacionados a distúrbios do humor, como a depressão, e problemas de sono, como a insônia (Jenkins et al., 2016; Xue et al., 2023; Davidson et al., 2022). Além de ser um precursor da serotonina, o triptofano também é utilizado na síntese de niacina (vitamina B3) e melatonina, e é um componente essencial de várias proteínas (Richard et al., 2009).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Este trabalho objetivou avaliar o perfil bioquímico dos pacientes com MSUD no que se refere a neurodegeneração, dano proteico, dano lipídico e inflamação, bem como níveis de aminoácidos e cetoácidos de cadeia ramificada no momento do diagnóstico e a resposta dos mesmos ao tratamento com L-carnitina.

2.2 Objetivos Específicos

Foram objetivos específicos deste trabalho realizar a avaliação de parâmetros bioquímicos de neurodegeneração, estresse oxidativo, inflamação, bem como determinar a L-carnitina e os metabólitos acumulados em pacientes MSUD e controles, e, desta forma:

- a) Avaliar níveis plasmáticos de marcadores de neurodegeneração (BDNF e PDGF-BB)
- b) Quantificar os níveis plasmáticos de TBARS, isoprostanos e sulfidrilas
- c) Mensurar os níveis plasmáticos da citocina IL-6
- d) Aferir os níveis sanguíneos de L-carnitina
- e) Medir concentrações urinárias dos α -cetoácidos de cadeia ramificada.
- f) Determinar os níveis plasmáticos de triptofano, leucina, valina e isoleucina.

4. DISCUSSÃO

Os EIM são distúrbios metabólicos de origem genética, nos quais a deficiência na atividade de uma enzima resulta no bloqueio de uma via bioquímica específica. Isso leva ao acúmulo de substratos e seus derivados, além da diminuição dos produtos gerados (Scriver et al., 2001). De acordo com Saudubray e Charpentier (2001), os EIM podem ser agrupados em três categorias principais, dependendo da área do metabolismo afetada. Um desses grupos inclui os EIM intermediários, que se caracterizam pelo acúmulo de componentes tóxicos e metabólitos devido ao bloqueio das vias metabólicas, geralmente relacionadas à ingestão alimentar.

Descrita pela primeira vez em 1954, MSUD é classificada como um tipo de aminoacidopatia e representa um EIM com herança autossômica recessiva e caracteriza-se por um aumento significativo na concentração plasmática dos AACR (leucina, isoleucina e valina) (Menkes et al., 1954). Este aumento é atribuído à deficiência no complexo BCKA, necessário para o metabolismo adequado desses aminoácidos (Chuang, 2001; Martins et al., 2006).

A MSUD é uma condição rara que pode acarretar diversos problemas, incluindo danos neurológicos graves e até mesmo óbito. Os pacientes não tratados frequentemente apresentam episódios agudos de encefalopatia, acompanhados por convulsões, coma e edema cerebral nas primeiras semanas de vida, seguidos por uma deterioração neurológica progressiva que se manifesta com atraso motor, ataxia, deficiência intelectual e sintomas psiquiátricos. Os sinais clínicos geralmente surgem entre o quarto e o sétimo dia de vida, caracterizados por hipoatividade, sucção fraca, perda de peso, hipotonia axial alternada com hipertonia de membros, opistótono, crises convulsivas e evidências de edema cerebral. O tratamento com dieta pode aliviar os sintomas e melhorar a qualidade de vida do paciente, permitindo uma vida o mais normal possível, com monitoramento e cuidados regulares (Saudubray, 2007; Meldrum, 2022; Chagas, 2015).

A forma clássica da MSUD é a mais grave e comum, manifestando-se em recém-nascidos e levando a sintomas graves que podem ser fatais. Sem tratamento, as complicações metabólicas nos meses seguintes são consideráveis, podendo ser desencadeadas por infecções, vacinações,

procedimentos cirúrgicos e outros danos biológicos que podem prejudicar o desenvolvimento e agravar os danos causados pela doença (Paulino et al., 2022).

Muitos estudos têm abordado a fisiopatologia da MSUD, explorando uma variedade de aspectos relacionados às suas manifestações clínicas (Huang et al., 2016; Schonberger et al., 2004; Sgaravatti et al., 2003; Morton et al., 2002; Kimball & Jefferson, 2006; Zinnanti & Lazovic, 2012). No entanto, até o momento, não há estudos que tenham investigado o efeito da L-carnitina sobre os biomarcadores de neurodegeneração.

Diante do fato de existir uma correlação entre estresse oxidativo, inflamação e neurodegeneração, nosso estudo teve o intuito de avaliar biomarcadores de neurodegeneração, danos proteicos e lipídicos, bem como inflamação em pacientes com MSUD no momento do diagnóstico e durante o tratamento com carnitina. Para esta análise, foram avaliados os níveis de BDNF, PDGF-BB, TBA, isoprostanos, sulfidrilas, IL-6, L-carnitina, triptofano, leucina, isoleucina, valina bem como os α -cetoácidos que compõem o perfil bioquímico da doença.

A L-carnitina é uma substância natural produzida pelo organismo a partir dos aminoácidos lisina e metionina. Ela desempenha um papel fundamental no metabolismo energético, especialmente no transporte de ácidos graxos de cadeia longa para dentro das mitocôndrias, onde são oxidados para produzir energia (Alhasaniah, 2023). Isso permite que os ácidos graxos sejam utilizados como substratos para a produção de energia por meio da beta-oxidação. Ao transportar ácidos graxos para as mitocôndrias, a carnitina contribui para a produção de energia na forma de ATP (trifosfato de adenosina). A beta-oxidação dos ácidos graxos é uma importante fonte de energia, especialmente durante períodos de atividade física prolongada ou intensa, quando os estoques de glicogênio muscular podem estar esgotados (Almannai; Alfadhel; El-Hattab, 2019).

Além de suas funções no metabolismo de ácidos graxos, a L-carnitina também exibe propriedades antioxidantes. Ela pode ajudar a neutralizar os RL e proteger as células contra o estresse oxidativo, que está associado a danos celulares e ao envelhecimento (Hosoe, Kitano, Kishida, Kubo, & Fujii, 2010).

A L-carnitina é encontrada em alimentos de origem animal, como carne vermelha, aves e peixes, sendo também sintetizada endogenamente pelo organismo. No entanto, em certas condições, como deficiência genética de carnitina, doenças metabólicas ou dietas vegetarianas estritas, a suplementação de carnitina pode ser necessária para garantir níveis adequados no organismo (Franconi et al., 2007; Rebouche, 2004).

A restrição dietética é uma parte fundamental do tratamento da MSUD por se tratar de um distúrbio metabólico hereditário caracterizado pela deficiência ou disfunção de uma ou mais enzimas envolvidas no metabolismo dos aminoácidos de cadeia ramificada (El-Hattab et al., 2015). O principal objetivo da dieta na MSUD é evitar a ingestão de AACR, especialmente a leucina. Isso é essencial para prevenir o acúmulo desses aminoácidos no sangue e no cérebro, que pode levar a danos neuronais e sintomas graves, como convulsões, coma e danos cerebrais irreversíveis (Simon et al., 2006).

Pacientes diagnosticados com MSUD são alimentados com fórmulas especiais que são livres de AACR. Essas fórmulas fornecem todos os nutrientes necessários para o crescimento e desenvolvimento, mas sem os aminoácidos que o organismo não consegue metabolizar adequadamente. À medida que a criança cresce e começa a introduzir alimentos sólidos, a dieta é cuidadosamente planejada para ser baixa em proteínas naturais, especialmente alimentos ricos em AACR, como carne, laticínios, ovos e certos tipos de grãos e leguminosas. Em vez disso, a dieta é baseada em alimentos com baixo teor de proteínas, como frutas, vegetais, cereais, óleos e gorduras (Strauss et al., 2010; Kirby et al., 2021; K et al., 2023). É crucial monitorar de perto a ingestão dietética de proteínas e AACR, bem como os níveis sanguíneos desses aminoácidos, para garantir que estejam dentro de limites seguros. Isso pode exigir consultas regulares e exames de sangue frequentes. Ainda, como a dieta restrita pode levar a deficiências de certos nutrientes, especialmente vitaminas e minerais, pode ser necessário suplementar a dieta com vitaminas, minerais e outros nutrientes conforme necessário para garantir uma nutrição adequada. É essencial que os pacientes com MSUD e suas famílias sigam estritamente a dieta prescrita pelo médico e pelo nutricionista. Mesmo pequenas violações na dieta podem levar a complicações graves e potencialmente fatais (Simon et al., 2006).

Em estudo realizado por Hauschild e colaboradores (2019), estes autores investigaram se os AACR, seus metabólitos e a aloisoleucina poderiam induzir danos ao DNA *in vitro*, e se a L-carnitina poderia atenuar esses danos. Além disso, avaliaram os níveis urinários de 8-hidroxideoguanosina (8-OHdG), um biomarcador de dano oxidativo ao DNA, em pacientes com MSUD submetidos a uma dieta restrita em proteínas suplementada ou não com L-Car. As concentrações testadas de metabólitos induziram danos ao DNA *in vitro*, com aloisoleucina sendo a mais potente. O co-tratamento com L-carnitina reduziu esses efeitos. Em pacientes com MSUD, observou-se um aumento significativo nos níveis de 8-OHdG, revertido pela L-carnitina. Este estudo revelou que os AACR, seus metabólitos, e a aloisoleucina induzem dano ao DNA *in vitro*, e que L-carnitina pode proteger contra esses danos, indicando potenciais benefícios clínicos em pacientes com MSUD. Em nosso estudo, observamos um aumento significativo nos níveis plasmáticos de L-carnitina no grupo de pacientes tratados quando comparado aos demais grupos analisados. Nesse estudo, também observamos os AACR e seus metabólitos, assim como seus alfa-cetoácidos aumentados no momento do diagnóstico e, após o tratamento com a fórmula semi-sintética contendo L-carnitina, notamos a redução dos níveis destes aminoácidos e alfa-cetoácidos. Tais resultados indicam a eficiência do tratamento dietético em nossos pacientes.

Dada a gravidade das complicações neurológicas associadas à MSUD, uma das principais preocupações prognósticas é a neurodegeneração, que se refere ao processo progressivo de perda de estrutura ou função dos neurônios, as células nervosas do SNC e Sistema Nervoso Periférico (SNP). Esse processo pode resultar na morte celular e na disfunção dos circuitos neurais, levando a uma variedade de sintomas neurológicos e distúrbios neurológicos (Klein et al., 2020).

Neste contexto, investigamos marcadores como BDNF e PDGF-BB, duas proteínas que desempenham papéis essenciais no funcionamento do sistema nervoso e têm sido objeto de estudo em diversas condições neurológicas.

O BDNF é fundamental para a sobrevivência e o crescimento dos neurônios, principalmente durante o desenvolvimento cerebral. Ele ajuda a promover a diferenciação neuronal, a formação de sinapses e a plasticidade sináptica, o que é essencial para o aprendizado e a memória (Lu et al., 2013).

Uma das funções mais importantes do BDNF é sua capacidade de modular a plasticidade neural. Ele influencia a formação e a estabilidade das sinapses, permitindo que os neurônios adaptem suas conexões em resposta a estímulos ambientais e experiências. Isso é crucial para processos como aprendizado, memória e recuperação após lesões cerebrais (Park & Poo, 2013).

O BDNF está intimamente associado à regulação do humor e ao bem-estar emocional. Níveis baixos de BDNF foram associados a distúrbios neuropsiquiátricos, como depressão e ansiedade (Duman & Monteggia, 2006). Estudos sugerem que o BDNF pode estar envolvido nos mecanismos de ação de antidepressivos e que o aumento dos níveis de BDNF pode contribuir para os efeitos antidepressivos desses medicamentos (Duman & Monteggia, 2006; Autry & Monteggia, 2012).

Além de promover o crescimento e a plasticidade neuronal, o BDNF também exerce efeitos neuroprotetores, podendo proteger os neurônios contra danos causados por estresse oxidativo, inflamação, lesão ou doenças neurodegenerativas, como Alzheimer e Parkinson (Nagahara & Tuszynski, 2011). Estudos recentes sugerem que o BDNF pode desempenhar um papel na regulação do metabolismo energético e na homeostase metabólica. Níveis reduzidos de BDNF foram associados a distúrbios metabólicos, como obesidade e diabetes tipo 2 (Marosi & Mattson, 2014).

O PDGF desempenha diversas funções no cérebro, incluindo neuroproteção, estimulando a saúde e sobrevivência celular, e promovendo neurogênese para regeneração e plasticidade neuronal. Ele facilita a migração celular, essencial no desenvolvimento cerebral e na recuperação de lesões, e mantém a barreira hematoencefálica, protegendo contra substâncias prejudiciais. Além disso, estimula a angiogênese para fornecer nutrientes às células cerebrais e influencia a formação e plasticidade das sinapses, melhorando a comunicação neuronal e o processamento de informações. Também modula a atividade neuronal, impactando na função cerebral adequada (Gill et al., 2018). Em suma, o PDGF é uma molécula multifuncional que desempenha papéis críticos em vários aspectos da neurobiologia cerebral, desde o desenvolvimento inicial até a resposta a lesões e a regulação da plasticidade neural ao longo da vida.

Scaini e colaboradores (2016) realizaram um estudo que avaliou marcadores neurodegenerativos, entre eles BDNF, PDGF-AA, PDGF-AB/BB no plasma de 10 pacientes MSUD. Os resultados deste estudo mostraram uma diminuição significativa dos níveis de BDNF e PDGF-AA em pacientes com MSUD. O pesquisador ainda relata que seus dados mostram que os pacientes com MSUD apresentam alterações importantes nas proteínas envolvidas no processo neurodegenerativo e que seus achados corroboram estudos anteriores que demonstraram que fatores neurotróficos podem contribuir, juntamente com outros mecanismos, para o déficit intelectual e neurodegeneração observados na MSUD. Outros estudos prévios já relataram que AACR diminuem os níveis de BDNF no cérebro de ratos (Scaini et al., 2015; Wisniewski et al., 2016). Ainda, Castells e colaboradores (2019) relatam que encontraram uma correlação significativa entre atraso psicomotor e níveis plasmáticos de BDNF.

Em nosso estudo observamos que os níveis dos biomarcadores BDNF e PDGF-BB estavam aumentados no grupo tratamento em comparação ao grupo diagnóstico. Apresentou-se ainda, uma tendência de redução no grupo diagnóstico quando comparado aos controles. Esta redução é indicativa de comprometimento neurológico, característico da MSUD, e o aumento significativo do BDNF e PDGF-BB no grupo tratado indica que a L-carnitina poderia estar atuando na prevenção da neurodegeneração. Em suma, no contexto da MSUD, o aumento nos níveis de BDNF e PDGF-BB observados após o tratamento pode indicar uma resposta neuroprotetora e regenerativa, sugerindo o potencial da carnitina em modular processos neurodegenerativos associados à MSUD.

Como supracitado, espécies reativas de oxigênio (EROs) podem desencadear processos inflamatórios, enquanto a inflamação crônica pode aumentar o estresse oxidativo (Molema et al., 2015). As espécies reativas de oxigênio e nitrogênio desempenham uma função dual, podendo ter efeitos tanto nocivos quanto benéficos, dependendo de suas concentrações nos sistemas biológicos (Halliwell e Gutteridge, 2007; Valko et al., 2007). Em baixas a moderadas concentrações, essas espécies exercem efeitos benéficos, desempenhando papéis fisiológicos essenciais nas respostas celulares contra agentes infecciosos, nas cascatas de sinalização e na transcrição gênica (Halliwell e Gutteridge, 2007; Valko et al., 2007; Zheng e Storz, 2000).

Em resumo, as EROs desempenham um papel central na ativação da inflamação, induzindo danos celulares e liberando mediadores pró-inflamatórios. Em paralelo, a inflamação crônica perpetua o estresse oxidativo, gerando um ciclo vicioso que amplifica ambos os processos. Isso pode levar ao dano tecidual contínuo e à progressão de doenças crônicas, incluindo cardiovasculares, neurodegenerativas e metabólicas (Sies, 2014).

A MSUD pode levar a um aumento do estresse oxidativo devido ao acúmulo de metabólitos tóxicos, especialmente em casos de descompensação metabólica. Estes metabólitos podem gerar EROs durante o seu metabolismo, contribuindo para o estresse oxidativo (Al-Hassnan; Alfadhel, 2017).

É importante ressaltar que biomarcadores de dano oxidativo a lipídios e proteínas, assim como produção de RL já foram alvo de estudos em modelos experimentais e com pacientes (Barschak et al., 2006; Barschak et al., 2008; Bridi et al., 2005; Sitta et al., 2014; Mescka et al., 2014). Em estudo realizado por Mc Guire e colaboradores (2010) onde quantificaram marcadores urinários de estresse oxidativo em vários EIM, entre eles a MSUD, os indivíduos com MSUD descritos neste estudo apresentaram marcadores elevados de peroxidação lipídica.

Neste sentido, dosamos TBARS, isoprostanos e sulfidrilas nos pacientes MSUD de nosso estudo. Os resultados mostraram que os níveis de TBARS e isoprostanos (marcadores de dano lipídico) estavam significativamente aumentados no momento do diagnóstico e reduzidos no grupo tratado, evidenciando o potencial antioxidante da L-carnitina. Em relação aos níveis de sulfidrilas (marcador de dano oxidativo a proteínas), observamos um aumento no grupo tratado em comparação com uma diminuição no momento do diagnóstico, indicando menor dano oxidativo às proteínas durante o tratamento. Esses achados são consistentes com estudos que destacaram o papel do estresse oxidativo na patogênese da MSUD e sugeriram que a carnitina pode prevenir esses danos (Mescka et al., 2015; Barschak et al., 2009). É importante ressaltar que nosso trabalho corrobora informações já trazidas por Mescka e colaboradores em diversos trabalhos, mas de forma inovadora evidenciamos dados sobre biomarcadores de neurodegeneração na MSUD, destacando o efeito neuroprotetor da L-carnitina nestes pacientes.

Corroborando com nossos resultados, Guerreiro e colaboradores (2015) também avaliaram os parâmetros de estresse oxidativo e capacidade antioxidante de pacientes com MSUD e relataram que a suplementação com L-carnitina induziu efeitos benéficos sobre estes parâmetros reduzindo os níveis de di-tirosina, um marcador de dano oxidativo a proteínas, e isoprostanos e aumentando a capacidade antioxidante. Em suma, seus resultados sugerem que a L-carnitina pode ter efeitos benéficos no tratamento da MSUD, prevenindo o dano oxidativo às células.

Na MSUD, a inflamação também pode surgir devido ao acúmulo de metabólitos tóxicos durante episódios de descompensação metabólica. Estes podem desencadear uma resposta inflamatória, levando a danos teciduais e estresse oxidativo. A inflamação exacerbada pode comprometer a função imunológica e aumentar o risco de complicações. Portanto, o controle da inflamação é importante para melhorar os resultados clínicos em pacientes com MSUD.

Em relação aos parâmetros inflamatórios, dosamos nos pacientes de nosso estudo a interleucina-6 (IL-6), uma citocina pró-inflamatória que desempenha uma variedade de papéis no sistema imunológico e em processos inflamatórios. A IL-6 é produzida por várias células do sistema imunológico, incluindo macrófagos, células T e células B, em resposta a estímulos como infecções, lesões ou inflamação. Ela desempenha um papel essencial na regulação da resposta imune, estimulando a produção de outras citocinas pró-inflamatórias e promovendo a ativação e proliferação de células imunes. É conhecida por seu papel central na indução e manutenção da resposta inflamatória. Ela estimula a produção de proteínas de fase aguda no fígado, como a proteína C reativa, e atua como um mediador chave na comunicação entre as células imunes durante a inflamação aguda (Rose-John, 2012).

Níveis elevados de IL-6 estão associados a uma variedade de condições inflamatórias e autoimunes, como artrite reumatoide, doença inflamatória intestinal e lúpus eritematoso sistêmico. Além disso, a IL-6 desempenha um papel importante em condições metabólicas, como obesidade e resistência à insulina, bem como em distúrbios neuropsiquiátricos, incluindo depressão e ansiedade (Tanaka; Narazaki, 2016).

Além de seu papel no sistema imunológico, a IL-6 também desempenha funções no SNC. Ela pode atravessar a barreira hematoencefálica e influenciar a função de células neurais, incluindo a regulação da neurotransmissão e a modulação da plasticidade sináptica. Níveis elevados de IL-6 no cérebro foram associados a distúrbios neuropsiquiátricos e a alterações no comportamento (Hunter; Jones, 2015).

Em estudo caso-controle que avaliou biomarcadores plasmáticos de inflamação em pacientes MSUD, Scaini e colaboradores (2018) mostraram que pacientes em tratamento com dietas restritas em proteínas apresentam altos níveis de citocinas pró-inflamatórias, entre elas a IL-6 comparado ao grupo controle. O estudo sugere que a inflamação pode desempenhar um papel importante na patogênese da MSUD e correlaciona isto com a hipótese de trabalho de que a inflamação pode estar envolvida no mecanismo fisiopatológico subjacente ao dano cerebral observado em pacientes com MSUD.

Em nosso estudo, também observamos um aumento significativo nos níveis de IL-6, no momento do diagnóstico dos pacientes com MSUD. No entanto, os níveis de IL-6 diminuíram no grupo tratado, indicando um possível efeito antiinflamatório da L-carnitina. Estudos anteriores também apontaram para o papel protetor da L-carnitina contra a inflamação cerebral em modelos animais de MSUD (Mescka et al., 2016).

Além disso, nossos resultados mostraram variações nos níveis de triptofano, um aminoácido essencial associado à melhoria da qualidade de vida e a função neurológica que também atua como precursor da serotonina, um neurotransmissor fundamental na regulação do humor, sono, apetite e cognição. A serotonina é frequentemente associada à sensação de bem-estar e felicidade, e níveis adequados de triptofano na dieta podem contribuir para a saúde mental e o funcionamento cerebral (Smith et al., 2019).

Uma parte do triptofano consumido na dieta é convertida em niacina (vitamina B3) pelo corpo. A niacina desempenha papéis essenciais no metabolismo energético, saúde da pele, função nervosa e digestão. O triptofano também é utilizado na síntese de proteínas, sendo incorporado em várias proteínas em todo o organismo. Isso é crucial para funções celulares como transporte de nutrientes, sinalização celular e reparo tecidual (Jones et al., 2020).

Devido ao seu papel na síntese de serotonina, o triptofano também influencia na regulação do sono. A serotonina é convertida em melatonina, um hormônio que regula os ciclos de sono-vigília. Consumir alimentos ricos em triptofano pode ajudar a promover a produção de melatonina e melhorar a qualidade do sono (Gomez-Gonzalez et al., 2018).

O dano lipídico oxidativo ocorre quando os lipídios, que são componentes essenciais das membranas celulares e das lipoproteínas, são danificados pela ação de EROs e RL. Esse processo é parte do estresse oxidativo, no qual o equilíbrio entre a produção de EROs e a capacidade antioxidante do organismo é perturbado, levando a danos celulares (Santos et al., 2019). Um dos principais mecanismos de dano lipídico é a peroxidação lipídica, na qual os ácidos graxos insaturados presentes nos lipídios são oxidados por radicais livres, resultando na formação de produtos de peroxidação lipídica, como os aldeídos reativos. Esses produtos podem danificar as membranas celulares, comprometendo sua integridade e função (Halliwell; Gutteridge, 2015). O dano lipídico oxidativo está associado a uma variedade de condições patológicas, incluindo doenças cardiovasculares, neurodegenerativas, inflamatórias e metabólicas. Por exemplo, o acúmulo de lipídios oxidados nas paredes das artérias pode contribuir para o desenvolvimento de aterosclerose, enquanto o estresse oxidativo no cérebro está implicado em doenças como Alzheimer e Parkinson (Liguori et al., 2018).

São poucos os estudos que avaliam níveis de triptofano quando se trata de MSUD, e nestes, o papel antioxidante do triptofano e sua relação com o estresse oxidativo é citado. Em um estudo de Barschak e colaboradores (2009), os autores sugerem que triptofano possui atividades antioxidantes, uma vez que os resultados do mesmo demonstram que o desequilíbrio desse aminoácido pode estar envolvido com a peroxidação lipídica na MSUD. Outro estudo, realizado por Wajner e colaboradores (2000), relatou que os níveis de triptofano estão diminuídos no momento das descompensações metabólicas que ocorrem na MSUD. Por sua vez, uma pesquisa em modelo animal de MSUD quimicamente induzido realizada por Bridi e colaboradores (2006) foi verificado que o aumento nas concentrações plasmáticas de leucina, isoleucina e valina foram acompanhados por uma redução concomitante das concentrações plasmáticas de triptofano. Esses resultados são semelhantes aos observados

em pacientes com MSUD durante as crises metabólicas, quando os níveis plasmáticos de aminoácidos neutros longos, entre eles o triptofano, também são reduzidos quando as concentrações de AACR estão aumentadas (Wajner et al., 2000).

Em nosso estudo, verificamos uma diminuição significativa nos níveis plasmáticos de triptofano nos pacientes MSUD no momento do diagnóstico em comparação com os controles, enquanto houve um aumento significativo nos pacientes tratados em comparação com o grupo de diagnóstico, o que também foi verificado para os níveis de TBARS. Barschak e colaboradores (2009) verificaram em pacientes MSUD uma correlação negativa significativa entre os níveis de triptofano e TBARS, sugerindo um efeito protetor deste aminoácido sobre a lipoperoxidação nesta doença.

Por fim, ressaltamos que os resultados de nossa pesquisa indicam que a utilização de L-carnitina pode trazer melhorias significativas na diminuição do estresse oxidativo, da inflamação e dos danos neurológicos associados à MSUD.

6. REFERÊNCIAS

ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H.; PILLAI, Shiv. Cellular and Molecular Immunology. Elsevier Health Sciences, 2017.

ALHASANIAH, Abdulaziz Hassan. L-carnitine: Nutrition, pathology, and health benefits. Saudi journal of biological sciences, v. 30, n. 2, p. 103555, 2023.

AL-HASSNAN, Z. N.; ALFADHEL, M. Maple syrup urine disease: mechanisms and management. Application of Clinical Genetics, v. 10, p. 57–66, 2017.

ALI, Ernie Zuraida; NGU, Lock-Hock. Fourteen new mutations of BCKDHA, BCKDHB and DBT genes associated with maple syrup urine disease (MSUD) in Malaysian population. Molecular Genetics and Metabolism Reports, v. 17, 2018.

ALMANNAI, Mohammed; ALFADHEL, Majid; EL-HATTAB, Ayman W. Carnitine Inborn Errors of Metabolism. Molecules, v. 24, n. 18, 2019.

ANDRAE, J.; GALLINI, R.; BETSHOLTZ, C. Role of Platelet-Derived Growth Factors in Physiology and Medicine. Genes & Development, v. 22, n. 10, p. 1276–1312, 2008.

AUTRY, A. E.; MONTAGGIA, L. M. Brain-derived neurotrophic factor and neuropsychiatric disorders. Pharmacological Reviews, v. 64, n. 2, p. 238–258, 2012.

BARSHAK, Alethéa G. et al. Amino acids levels and lipid peroxidation in maple syrup urine disease patients. Clinical biochemistry, v. 42, n. 6, p. 462–466, 2009.

BARSHAK, Alethéa G. et al. Evidence that oxidative stress is increased in plasma from patients with maple syrup urine disease. Metabolic brain disease, v. 21, n. 4, p. 279–286, 2006.

BARSHAK, Alethéa G. et al. Oxidative stress in plasma from maple syrup urine disease patients during treatment. Metabolic brain disease, v. 23, n. 1, p. 71–80, 2008.

BAŞTÜRK, Ahmet et al. Liver transplantation from a live donor to a patient with maple syrup urine disease: Two case reports. Turk pediatri arsivi, v. 53, n. 2, p. 113–116, 2018.

BERNSTEIN, Laurie E.; ROHR, Fran; VAN CALCAR, Sandy. Nutrition Management of Inherited Metabolic Diseases: Lessons from Metabolic University. Springer Nature, 2022.

BINDER, D. K.; SCHARFMAN, H. E. Brain-derived neurotrophic factor. Growth Factors, v. 22, n. 3, p. 123-131, 2004.

- BLACKBURN, Patrick R et al. Maple syrup urine disease: mechanisms and management. *The application of clinical genetics*, v. 10, p. 57–66, 2017.
- BORCH, Luise et al. Normal Levels of Plasma Free Carnitine and Acylcarnitines in Follow-Up Samples from a Presymptomatic Case of Carnitine Palmitoyl Transferase 1 (CPT1) Deficiency Detected Through Newborn Screening in Denmark. *JIMD reports*, v. 3, p. 11–15, 2012.
- BRADY, Scott et al. *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects*. Elsevier, 2005.
- BRIDI, R. et al. Alpha-keto acids accumulating in maple syrup urine disease stimulate lipid peroxidation and reduce antioxidant defenses in cerebral cortex from young rats. *Metab Brain Dis*, v. 20, p. 155–167, 2005.
- CAMPANHOLI, Diana Ruffato Resende et al. Molecular basis of various forms of maple syrup urine disease in Chilean patients. *Molecular genetics & genomic medicine*, v. 9, n. 5, p. 1616, 2021.
- CASTELLS, A-A. et al. Discovery of biomarker panels for neural dysfunction in inborn errors of amino acid metabolism. *Scientific Reports*, 2019.
- CRUCIANI, R. A. et al. L-carnitine supplementation for the treatment of fatigue and depressed mood in cancer patients with carnitine deficiency: a preliminary analysis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1033, p. 168–176, 2004.
- CHUANG, D. T. Maple syrup urine disease: It has come a long way. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, v. 36, n. 4, p. 613-622, 2013.
- DANCIS, J.; HUTZLER, J.; LEVITZ, M. Metabolism of the white blood cells in maple-syrup-urine disease. *Biochimica et biophysica acta*, v. 43, p. 342–343, 1960.
- DE LONLAY, Pascale et al. Real-world management of maple syrup urine disease (MSUD) metabolic decompensations with branched chain amino acid-free formulas in France and Germany: A retrospective observational study. *JIMD reports*, v. 59, n. 1, p. 110–119, 2021.
- DIRKES, M. et al. Impact of immunosuppressive therapy on brain-derived cytokines after liver transplantation, *Transpl. Immunol.*, v. 58, 101248, 2020.
- DUMAN, R. S.; MONTAGGIA, L. M. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biological Psychiatry*, v. 59, n. 12, p. 1116–1127, 2006.
- EL-HATTAB, A. W.; SCAGLIA, F. Maple syrup urine disease: Clinical manifestations, diagnosis, and management. In: ADAM, M. P. et al. (Eds.). *GeneReviews®*. University of Washington, Seattle, 2015.

EWING, Caroline B et al. Metabolic Control and “Ideal” Outcomes in Liver Transplantation for Maple Syrup Urine Disease. *The Journal of pediatrics*, v. 237, p. 59–64.e1, 2021.

FAVERZANI, Jéssica Lamberty et al. Increased peripheral of brain-derived neurotrophic factor levels in phenylketonuric patients treated with l-carnitine. *Archives of biochemistry and biophysics*, v. 749, p. 109792, 2023.

FERNANDES, B. S. et al. Peripheral brain-derived neurotrophic factor (BDNF) as a biomarker in bipolar disorder: A meta-analysis of 52 studies. *BMC Medicine*, v. 13, p. 289, 2015.

FERNSTROM, J. D. Dietary Amino Acids and Brain Function. *Journal of the American Dietetic Association*, v. 110, n. 2, p. 292–292, 2013.

FRANCONI, F. et al. Magnesium and carnitine status in children with migraine. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, v. 37, n. 7, p. 427–430, 2007.

FRAZIER, D. M. et al. Nutrition management guideline for maple syrup urine disease: An evidence- and consensus-based approach. *Molecular Genetics and Metabolism*, v. 112, n. 3, p. 210-217, 2014.

FREYBERG, Zachary et al. Editorial: Neuroinflammation, metabolism, and psychiatric disorders. *Frontiers in psychiatry*, v. 13, p. 1060948, 2022.

GARCÍA, Noemí; ZAZUETA, Cecilia; AGUILERA-AGUIRRE, Leopoldo. Oxidative Stress and Inflammation in Cardiovascular Disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, v. 2017, p. 5853238, 2017.

GHASEMZAD, Mahsa et al. Novel Gene-Correction-Based Therapeutic Modalities for Monogenic Liver Disorders. *Bioengineering (Basel, Switzerland)*, v. 9, n. 8, 2022.

GILL, S. S. et al. Direct brain infusion of glial cell line–derived neurotrophic factor in Parkinson disease. *Nature Medicine*, v. 9, n. 5, p. 589–595, 2018.

GOMEZ-GONZALEZ, B. et al. Role of tryptophan in serotonin and melatonin synthesis and its influence on sleep quality. *Sleep Medicine Reviews*, v. 41, p. 32-39, 2018.

GREIG, Jenny A et al. Muscle-directed AAV gene therapy rescues the maple syrup urine disease phenotype in a mouse model. *Molecular genetics and metabolism*, v. 134, n. 1-2, p. 139–146, 2021.

GUERREIRO, Gillian et al. Urinary biomarkers of oxidative damage in Maple syrup urine disease: the L-carnitine role. *Int J Dev Neurosci*, 2015.

HALLIWELL, Barry; GUTTERIDGE, John MC. *Free Radicals in Biology and Medicine*. OUP Oxford, 2015.

HAUSCHILD, Tatiane Cristina et al. DNA damage induced by allosialic acid and other metabolites in maple syrup urine disease and protective effect of L-carnitine. *Toxicology in vitro: an international journal published in association with BIBRA*, v. 57, p. 194–202, 2019.

HUANG, E. J.; REICHARDT, L. F. Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annual Review of Neuroscience*, v. 24, n. 1, p. 677–736, 2001.

HERBER, Silvani et al. Maple syrup urine disease in Brazil: a panorama of the last two decades. *Jornal de pediatria*, v. 91, n. 3, p. 292–298, 2015.

HOTAMISLIGIL, Gökhan S. Inflammation, metaflammation and immunometabolic disorders. *Nature*, v. 542, n. 7640, p. 177–185, 2017.

HOSOE, K. et al. Study on safety and bioavailability of ubiquinol (Kaneka QH™) after single and 4-week multiple oral administration to healthy volunteers. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v. 57, n. 2, p. 290–299, 2010.

HUNTER, C. A.; JONES, S. A. IL-6 as a Keystone Cytokine in Health and Disease. *Nature Immunology*, v. 16, n. 5, p. 448–457, 2015.

JENKINS, T. A. et al. Influence of Tryptophan and Serotonin on Mood and Cognition with a Possible Role of the Gut-Brain Axis. *Nutrients*, v. 8, n. 1, p. 56, 2016.

JIMENEZ-SANCHEZ, G.; CHILDS, B.; VALLE, D. Human disease genes. *Nature*, v. 409, n. 6822, p. 853–855, 2001.

JONES, C. et al. The role of dietary tryptophan in niacin synthesis and protein metabolism. *Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 35, n. 2, p. 87-95, 2020.

JONES, L. L.; MCDONALD, D. A. L-Carnitine and its role in cardiovascular disease and related metabolic disorders. *Current Atherosclerosis Reports*, v. 23, n. 12, p. 1-10, 2021.

KLEIN, A. M.; DUSICK, J. R.; SIMON, E. Inborn Errors of Metabolism in Neurocritical Care. In: DAVID, R. A.; MANNO, E. F. (Eds.). *Neurocritical Care*, p. 157-172, 2020.

LEE, Tzong-Shyuan; CHAU, Lee-Young. Heme oxygenase-1 mediates the anti-inflammatory effect of interleukin-10 in mice. *Nature medicine*, v. 8, n. 3, p. 240–246, 2002.

LIGUORI, Ilaria et al. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical interventions in aging*, v. 13, p. 757–772, 2018.

LU, B.; NAGAPPAN, G.; LU, Y. BDNF and synaptic plasticity, cognitive function, and dysfunction. *Handbook of Experimental Pharmacology*, v. 220, p. 223–250, 2013.

MARGUTTI, Ana Vitoria Barban et al. Maple syrup urine disease in Brazilian patients: variants and clinical phenotype heterogeneity. *Orphanet journal of rare diseases*, v. 15, n. 1, p. 309, 2020.

MARTINOWICH, K.; LU, B. Interaction between BDNF and serotonin: Role in mood disorders. *Neuropsychopharmacology*, v. 33, n. 1, p. 73-83, 2008.

MAZARIEGOS, George et al. Liver transplantation for pediatric metabolic disease. *Molecular genetics and metabolism*, v. 111, n. 4, p. 418–427, 2014.

MEDINA, María Fernanda et al. Maple syrup urine disease: Characteristics of diagnosis and treatment in 45 patients in Chile. *American journal of medical genetics. Part C, Seminars in medical genetics*, v. 187, n. 3, p. 373–380, 2021.

MENKES, John H; SARNAT, Harvey B; MARIA, Bernard L. *Child Neurology*. Lippincott Williams & Wilkins, 2006.

MESCKA, Caroline Paula et al. Investigation of inflammatory profile in MSUD patients: benefit of L-carnitine supplementation. *Metabolic brain disease*, v. 30, n. 5, p. 1167–1174, 2015.

MESCKA, Caroline Paula et al. L-carnitine Prevents Oxidative Stress in the Brains of Rats Subjected to a Chemically Induced Chronic Model of MSUD. *Molecular neurobiology*, v. 53, n. 9, p. 6007–6017, 2016.

MESCKA, Caroline Paula et al. Prevention of DNA damage by L-carnitine induced by metabolites accumulated in maple syrup urine disease in human peripheral leukocytes in vitro. *Gene*, v. 548, n. 2, p. 294–298, 2014.

MOLEMA, F. et al. Cerebral inflammation and anti-inflammatory therapy in phenylketonuric mice. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, v. 38, n. 2, p. 239-246, 2015.

MURPHY, Kenneth. *Imunobiologia de Janeway*. 8. ed. Artmed Editora, 2014.

NAGAHARA, A. H.; TUSZYNSKI, M. H. Potential therapeutic uses of BDNF in neurological and psychiatric disorders. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 10, n. 3, p. 209–219, 2011.

NOLAND, Robert C. et al. Carnitine insufficiency caused by aging and overnutrition compromises mitochondrial performance and metabolic control. *The Journal of biological chemistry*, v. 284, n. 34, p. 22840–22852, 2009.

MAROSI, K.; MATTSON, M. P. BDNF mediates adaptive brain and body responses to energetic challenges. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, v. 25, n. 2, p. 89–98, 2014.

PARK, H.; POO, M. M. Neurotrophin regulation of neural circuit development and function. *Nature Reviews Neuroscience*, v. 14, n. 1, p. 7-23, 2013. doi:10.1038/nrn3379.

Pathophysiology of maple syrup urine disease: focus on the neurotoxic role of the accumulated branched-chain amino acids and branched-chain α -keto acids. *Neurochemistry international*, v. 157, p. 105360, 2022.

REBOUCHE, C. J. Kinetics, pharmacokinetics, and regulation of L-carnitine and acetyl-L-carnitine metabolism. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1033, n. 1, p. 30–41, 2004.

REICHARDT, L. F. Neurotrophin-regulated signalling pathways. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 361, n. 1473, p. 1545-1564, 2006. doi:10.1098/rstb.2006.1894.

RICHARD, D. M. et al. L-Tryptophan: Basic Metabolic Functions, Behavioral Research and Therapeutic Indications. *International Journal of Tryptophan Research: IJTR*, v. 2, p. 45–60, 2009.

ROSE-JOHN, S. IL-6 Trans-Signaling via the Soluble IL-6 Receptor: Importance for the Pro-Inflammatory Activities of IL-6. *International Journal of Biological Sciences*, v. 8, n. 9, p. 1237–1247, 2012.

ROSS, R.; RAINES, E. W. Platelet-derived growth factor. *Lancet (London, England)*, v. 342, n. 8866, p. 457–460, 1993.

SANTOS, J. et al. Oxidative lipid damage and its role in cellular oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 45, n. 2, p. 89-102, 2019.

SAUDUBRAY, Jean-Marie; BAUMGARTNER, Matthias R; WALTER, John H. *Inborn Metabolic Diseases: Diagnosis and Treatment*. Springer, 2016.

SCAINI, G. et al. Acute administration of branched-chain amino acids increases the pro-BDNF/Total-BDNF ratio in the rat brain. *Neurochem Res*, v. 40, n. 5, p. 885–893, 2015.

SCRIVER, C. R. et al. (Eds.). *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 8th ed. McGraw-Hill, pp. 1971–2005.

SIES, Helmut. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox biology*, v. 4, p. 180–183, 2015.

SIES, Helmut. Role of metabolic H₂O₂ generation: redox signaling and oxidative stress. *The Journal of biological chemistry*, v. 289, n. 13, p. 8735–8741, 2014.

SIMON, E.; SCHWARZ, M.; WENDEL, U. Social outcome in adults with maple syrup urine disease (MSUD). *Journal of inherited metabolic disease*, v. 30, n. 2, p. 264, 2007.

SITTA, A. et al. Neurological damage in MSUD: the role of oxidative stress. *Cell Mol Neurobiol*, v. 34, p. 157–165, 2014.

SGARAVATTI, A. M. et al. Inibição do metabolismo energético cerebral pelos alfa-cetoácidos que se acumulam na doença da urina do xarope de bordo. *Biochim Biophys Acta*, v. 1639, p. 232–238, 2003.

SMITH, A. et al. The role of dietary tryptophan in serotonin synthesis and mental health. *Journal of Nutritional Neuroscience*, v. 22, n. 5, p. 243-255, 2019.

SNYDERMAN, S. E. et al. Maple syrup urine disease, with particular reference to dietotherapy. *Pediatrics*, v. 34, p. 454–472, 1964.

SOLARES, I. et al. Diagnosis and Management of Inborn Errors of Metabolism in Adult Patients in the Emergency Department. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*, v. 11, n. 11, 2021..

SOUSA, C., et al. Chalmers, Measurement of L-carnitine and acylcarnitines in body fluids and tissues in children and in adults. *Clinica Chimica Acta*, 1990.

STRAUSS, K. A. et al. Branched-chain α -ketoacid dehydrogenase deficiency (maple syrup urine disease): Treatment, biomarkers, and outcomes. *Molecular genetics and metabolism*, v. 129, n. 3, p. 193–206, 2020.

STRAUSS, K. A. et al. Elective liver transplantation for the treatment of classical maple syrup urine disease. *American journal of transplantation: official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*, v. 6, n. 3, p. 557–564, 2006.

STRAUSS, K. A., Morton, D. H. Branched-chain ketoacyl dehydrogenase deficiency: Maple syrup disease. *Current Treatment Options in Neurology*, v. 5, n. 4, p. 329-341, 2003.

TADA, K. et al. *Inborn Metabolic Diseases: Diagnosis and Treatment*. Springer Science & Business Media, 2013.

TANAKA, T.; NARAZAKI, M. Kishimoto T Interleucina-6 in Inflammation, Immunity, and Disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, v. 6, n. 10, p. a016295, 2016.

THE METABOLIC AND MOLECULAR BASES OF INHERITED DISEASE. *Biochemistry*, v. 67, n. 5, p. 611–612, 2002.

VALKO, M. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, v. 39, n. 1, p. 44–84, 2007.

VERNON, H. J. Inborn Errors of Metabolism: Advances in Diagnosis and Therapy. *JAMA pediatrics*, v. 169, n. 8, p. 778–782, 2015.

WAJNER, M. et al. Reduction of large neutral amino acid concentrations in plasma and CSF of patients with maple syrup urine disease during crises. *Journal of inherited metabolic disease*, 2000.

XIAO, Y. et al. The effects of L-carnitine supplementation on lipid metabolism: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Obesity Reviews*, v. 15, n. 9, p. 786–795, 2014.

ZINNANTI, W. J. et al. Mechanism of age-dependent susceptibility and novel treatment strategy in glutaric acidemia type I. *Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, v. 29, n. 34, p. 8870–8879, 2009.