

**ACIDOS HOMOVANILICO, 5-HIDROXIINDOLACETICO
Y VANILILMANDELICO EN LA ORINA DE
ENFERMOS DE COREA DE HUNTINGTON**

Ernesto Bonilla*

RESUMEN

Se estudiaron 10 enfermos de Corea de Huntington y 14 controles clínicamente sanos, demostrándose una excreción urinaria normal de los ácidos homovanílico, vanililmandélico y 5-hidroxiindolacético en los pacientes estudiados. Se observó una correlación positiva y significativa entre las concentraciones del ácido homovanílico y las del ácido 5-hidroxiindolacético en los controles. También se demostró una correlación positiva y significativa para las concentraciones de los ácidos vanililmandélico y 5-hidroxiindolacético en los coreicos y los controles. Posiblemente estas variaciones reflejan la actividad de la Monoaminooxidasa, enzima asociada con el catabolismo de dopamina, serotonina, epinefrina y norepinefrina.

INTRODUCCION

Durante los últimos 15 años se han realizado estudios de importancia singular dirigidos a recabar una mayor información acerca de la patofisiología de los síndromes extrapiramidales. La aplicación de las técnicas y conocimientos bioquímicos han contribuido al mayor entendimiento de un gran número de esas entidades nosológicas.

En 1958, Carlsson (14) demostró la presencia de dopamina en el cerebro, el 80% de la cual está localizada en el cuerpo estriado, en donde alcanza concentraciones muy superiores a las de la norepinefrina (9, 40), por lo que es lógico asumir que, en esa región, la dopamina tiene una función independiente y no es solamente un simple precursor en el proceso biosintético de la norepinefrina.

Este trabajo fue subvencionado parcialmente por la Fundación José María Vargas y el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia.

** Instituto de Investigación Clínica, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Apartado 1151, Maracaibo, Venezuela.*

Barbeau (6), al estudiar cinco casos de Corea de Huntington, encontró, en la orina de todos sus pacientes, un incremento de una sustancia con actividad presora sobre aorta de conejo y con reacción de Simola positiva. Solamente la epinefrina, norepinefrina, dopamina y epinina, dieron positividad simultáneamente para ambas reacciones. Utilizando un método cualitativo no pudo identificar la excreción de serotonina o de su derivado, 5-hidroxiindolacético pero, valiéndose de una técnica mas refinada, el mismo Barbeau y col (7) demostraron una excreción urinaria de dopamina normal, o ligeramente disminuída en cuatro pacientes de Corea de Huntington. Ese mismo año el citado autor (8) sugirió que en los llamados síndromes estriados (disonía, corea y atetosis) hay probablemente una acumulación de dopamina en los ganglios basales.

Ehringer y Hornykiewicz (22) demostraron, sin lugar a dudas, que la concentración de dopamina en el neostriado está significativamente reducida en los casos de parkinsonismo pero, en la Corea de Huntington, no observaron ningún descenso en el contenido de dopamina del núcleo caudado, a pesar de que esta enfermedad está asociada preferencialmente con la degeneración de la mayoría de las pequeñas neuronas, consideradas por McLennan (27) como las encargadas de liberar dopamina. Los resultados de Ehringer y Hornykiewicz hacen pensar que, si bien la concentración de dopamina en el núcleo caudado es normal en la Corea de Huntington, la cantidad de neuronas dopaminérgicas es baja, lo cual sugiere que, en contraste con la Enfermedad de Parkinson, la concentración de dopamina por neurona activa está elevada en la Corea (18).

Los resultados obtenidos, al medir la cantidad de catecolaminas eliminadas diariamente en la orina de los pacientes coreicos, han sido muy contradictorios. A diferencia de los hallazgos de Barbeau y col (7), O'Reilley y col (36) reportaron la excreción de altos niveles de dopamina en el grupo de enfermedades que ellos catalogaron como "desórdenes misceláneos de los ganglios basales", en el cual incluyeron dos casos de Corea de Huntington y un caso de Corea Crónica Progresiva, no hereditaria. Pero lo más importante a señalar en este trabajo es el hallazgo de que los pacientes que presentaron la mas alta excreción de dopamina tuvieron, como denominador común, movimientos anormales involuntarios. Este hallazgo les hizo especular sobre el posible papel que pudiese representar el exceso de dopamina en la patogenia de esos movimientos. Williams y col (52), por el contrario, reportaron una excreción urinaria normal de ácido homovanílico, principal producto catabólico de la dopamina (27), en cuatro pacientes de Corea de Huntington. Sin embargo, dos de los pacientes no tenían antecedentes familiares, por lo que deben considerarse como casos dudosos de Corea de Huntington. Además, el número de enfermos estudiados fue tan pequeño, que no es posible llegar a ninguna conclusión valedera.

Cotzias y col (17), al considerar el potencial terapéutico de la DL-DOPA en el tratamiento de la Enfermedad de Parkinson, observaron movimientos atetoides solamente en aquellos pacientes en los cuales el efecto terapéutico fue mas impresionante. Los movimientos involuntarios se presentaron también cuando se ensayó la L-DOPA (18), y se observaron más nítidamente en aquellos pacientes que tenían una mayor duración de su enfermedad. Estos movimientos aparecían al controlar clínicamente la enfermedad y desaparecían al desmejorar el cuadro clínico parkinsoniano.

Al administrar grandes dosis de Fenilalanina (26) o de L-DOPA (23), se produce un aumento en la concentración de la dopamina cerebral. Este aumento provocaría una depresión de la inhibición que ejerce el cuerpo estriado sobre los movimientos espontáneos, determinando un incremento de la actividad motora, con aparición de movimientos involuntarios.

En resumen, los hallazgos patológicos, clínicos y experimentales relacionan al exceso de dopamina con los movimientos anormales involuntarios.

Birkmayer (10) y Klawans (28) han sugerido que la dopamina actúa sobre los receptores dopaminérgicos del cuerpo estriado para producir la Enfermedad de Huntington. Puesto que el contenido de dopamina en el cuerpo estriado de individuos fallecidos con esta enfermedad es aparentemente normal (22), Birkmayer cree que la enfermedad es debida a un aumento en el recambio de la dopamina con incremento de la síntesis y degradación, lo que mantiene constante su concentración tisular. Klawans sugirió que la dopamina, presente en concentraciones normales, actúa sobre receptores estriados que poseen una sensibilidad anormalmente elevada (28). De acuerdo a este concepto, la Corea de Huntington se produce como consecuencia de una respuesta anormal de los receptores dopaminérgicos del cuerpo estriado a cantidades normales de dopamina.

A la luz de los trabajos de Sourkes y col y de Oliphant y col, el metabolismo de la serotonina ha sido considerado normal (38). Sin embargo, existen evidencias indirectas que sugieren alteraciones marcadas en dicho metabolismo. Los cambios anatomopatológicos se suceden característicamente en el cuerpo estriado, región muy rica en terminales nerviosos que contienen serotonina (2). Las drogas que pudieran actuar inhibiendo la función serotoninérgica tienden a suprimir los movimientos anormales involuntarios de esta enfermedad (20, 30, 50), mientras que los agentes farmacológicos que presumiblemente estimulan los mecanismos serotoninérgicos ejercen efectos clínicos opuestos (49). Por otro lado, los trabajos de Lee y col (31) han demostrado la propiedad del 5-hidroxitriptofano (precursor inmediato de la serotonina) de incrementar los movimientos involuntarios de esta enfermedad. Estos hallazgos apoyan la

hipótesis de que el exceso funcional de las neuronas serotoninérgicas desempeña un papel importante en la patogenia de la Corea de Huntington. El problema se complica con la demostración de Chase y col (19) de que la Fenclonina (DL-parachlorophenylalanina), potente inhibidor selectivo de la síntesis de la serotonina, no produce ninguna alteración en la función motora de los coreicos, a pesar de reducir el contenido de 5-hidroxiindolacético en líquido cefalorraquídeo en más de un 50% de su valor basal. Además, los valores basales de ácido 5-hidroxiindolacético en LCR fueron normales en los 6 pacientes estudiados. Estos dos últimos hallazgos ponen en duda la hipótesis de que la hiperfunción de las neuronas ricas en serotonina juega un papel crucial en la patogenia de la Corea de Huntington. Las observaciones clínicas en pacientes que reciben L-triptofano, apoyan el concepto de que la función serotoninérgica aumentada no es la responsable de la exacerbación de los síntomas producidos como consecuencia de la administración de 5-hidroxitriptofano. En efecto, dosis hasta de 10 gramos diarios de L-triptofano no modifican la corea (19), a pesar de que este aminoácido actúa selectivamente elevando las concentraciones de serotonina en las neuronas serotoninérgicas (1).

La determinación del ácido vanililmandélico (3-metoxi-4-hidroximandélico) urinario es de gran importancia para la evaluación del metabolismo de la norepinefrina y de la epinefrina en todo el organismo. Dicho ácido representa uno de los principales metabolitos de esas catecolaminas (3). En 1959, Axelrod y col descubrieron un nuevo compuesto y lo identificaron como el 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol sulfato (4) que, al parecer, es el metabolito de las catecolaminas formado en mayor cuantía en el cerebro de los mamíferos (32, 42, 43). Su determinación en la orina, a pesar de ser aún complicada y laboriosa, puede proveer un índice mas directo de la actividad noradrenérgica central. Aparentemente, sólo un pequeño porcentaje del ácido vanililmandélico urinario proviene del cerebro y se cree que cerca del 25% del 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol encontrado en orina deriva de ese órgano (24, 51).

Se acepta universalmente que la norepinefrina es la principal catecolamina de los nervios simpáticos y del cerebro (47, 48), y que la formación de la adrenalina está confinada principalmente a la médula suprarrenal. La distribución topográfica de la noradrenalina en cerebro humano ha sido detallada por Sano y col (40) y Ehringer y Hornykiewicz (22). Su concentración en ganglios basales es baja (0,1 $\mu\text{g}/\text{gr}$) y mucho menor que la de la dopamina (2,5 $\mu\text{g}/\text{gr}$).

La concentración cerebral de noradrenalina está reducida en la Enfermedad de Parkinson, pero la eliminación urinaria de vanililmandélico

es normal en dicha enfermedad (13). Con respecto a la Corea de Huntington los estudios realizados hasta ahora han dado resultados contradictorios. Se ha reportado una eliminación urinaria de norepinefrina menor que en los controles sanos (27), aunque ello pudiera ser debido a la acción continua de la reserpina que habían estado recibiendo por largo tiempo 3 de los 5 pacientes coreicos estudiados, y cuya ingestión fue suspendida sólo 24 horas antes de la recolección de orina. Por otro lado, en 4 pacientes examinados en un laboratorio diferente, la excreción urinaria de norepinefrina fue estadísticamente mayor que en los controles sanos (45, 46). En vista de la imposibilidad material de determinar el 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol, procedimos a la cuantificación del ácido vanililmandélico urinario en un mayor número de pacientes coreicos, y a comparar nuestros resultados con los previamente señalados, a fin de tratar de dilucidar si en verdad existe una diferencia significativa entre los pacientes coreicos y los controles sanos, y de especular sobre su posible importancia como mecanismo determinante en la fisiopatología de la enfermedad que nos atañe.

El propósito de este estudio es, fundamentalmente, determinar el grado de compromiso del metabolismo de las catecolaminas y de la serotonina en la Corea de Huntington, así como analizar las posibilidades terapéuticas que pudieran derivarse del hallazgo de una alteración metabólica de importancia.

MATERIAL Y METODO

Se estudiaron 10 enfermos de Corea de Huntington, 5 del sexo masculino y 5 del femenino, residentes en el Municipio San Francisco del Distrito Maracaibo, Estado Zulia. Todos los pacientes tenían antecedentes familiares de la enfermedad (34) y presentaban movimientos involuntarios anormales como manifestación clínica dominante. Catorce individuos clínicamente normales (5 mujeres y 9 hombres) se tomaron como controles sanos.

Para las determinaciones de los ácidos homovanílico, 5-hidroxiindolacético y vanililmandélico, se colectaron orinas de 24 horas en botellas de vidrio de color ámbar, que contenían 10 ml de HCl 6N. Los recipientes, con la orina recogida, se almacenaron a una temperatura de 2 a 4°C hasta el momento de realizar las determinaciones.

Determinación del ácido homovanílico urinario.

El ácido homovanílico urinario se determinó siguiendo la técnica descrita por Sato (41). El ácido es adsorbido en Dowex AG-1 (cloruro), eluido con NaCl 1,5 N y extraído con una mezcla de tolueno-cloroformo

4:1. El compuesto es luego oxidado con ferricianuro de potasio, en solución alcalina. La sustancia fluorescente resultante se midió en un Espectrofotofluorímetro Aminco-Bowman a las longitudes de onda de activación y fluorescencia de 320 y 420 m μ , respectivamente.

Con el procedimiento descrito, el porcentaje de recuperación del ácido homovanílico agregado osciló entre el 73% y el 89%, con un promedio de 84%.

Determinación del ácido 5-hidroxiindolacético urinario.

Se utilizó el método de Contractor (15) que se basa en la observación de que el ácido 5-hidroxiindolacético urinario, al mezclarse con HCl 0,1 N se adsorbe en Sephadex G 10 y puede ser eluído cuantitativamente con un volumen pequeño de NH₄OH 0,02 N. El ácido se estimó a las longitudes de onda de activación y fluorescencia de 295 m μ y 535 m μ respectivamente. El porcentaje de recuperación obtenida varió entre 76% y 99% con un promedio de 90%.

Determinación del ácido vanililmandélico urinario.

Se utilizó el procedimiento desarrollado por Hycel Inc (Mandelic acid determination, A publication of Hycel, Inc. Houston, Texas, 1965, p 3-8) el cual demostró ser de gran simplicidad, sensibilidad y reproductibilidad. Este método se basa en la "diazotización" del ácido 3-metoxi-hidroxi-mandélico seguido de la adición de una amina para alterar el pH y producir el color púrpura típico de la reacción.

La determinación del ácido vanililmandélico por este método amerita el uso de silicato de magnesio, en presencia de HCl, para adsorber la mayor cantidad posible de cromógenos urinarios extraños, aminoácidos y otras sustancias que pudieran interferir con el complejo coloreado que se forma. El acetato de etilo permite la extracción completa del ácido mandélico, que es luego separado de dicho solvente con una solución de carbonato de sodio, la cual proporciona todos los iones carbonatos necesarios para la "diazotización". El ácido diazotizado es reextraído con acetato de etilo. Cualquier cromógeno urinario extraño es removido mediante lavados de este solvente orgánico con hidróxido de sodio. El complejo coloreado formado es sensible a los cambios de pH y requiere del agregado de un álcali fuerte para que tome el color púrpura típico de la reacción.

Determinación de creatinina.

La creatinina se midió mediante una modificación del método de Folin que básicamente consiste en el agregado de una solución alcalina de picrato

a un filtrado de orina (37). La creatinina reacciona formando un complejo de color anaranjado (reacción de JAFFE). El complejo se midió en un Espectrofotómetro Zeiss PMQ II a la longitud de onda de 520 m μ .

Reactivos.

Todos los reactivos utilizados fueron de un alto grado de pureza (analíticos) y no precisaron de purificación ulterior.

RESULTADOS

Se calcularon los valores de t (Student's t-test) para probar la significación de los resultados obtenidos en los controles normales y en los pacientes coreicos. Las correlaciones entre las diferentes variables químicas se analizaron en relación a su linealidad (r de Pearson) (5, 21).

La tabla 1 muestra las concentraciones de ácido homovanílico en la orina de 14 individuos normales y 9 pacientes coreicos. Las concentraciones promedio (expresadas en μ g de ácido homovanílico por mg de creatinina) y las desviaciones standard fueron de $6,33 \pm 2,06$ para los controles normales y de $6,51 \pm 2,55$ para los coreicos. No se observó ninguna diferencia, estadísticamente significativa, entre las concentraciones de ácido homovanílico de los controles y de los coreicos ($t=0,19$; $0,9 > P > 0,8$).

En la tabla 2 se señalan las concentraciones del ácido vanililmandélico en 13 sujetos normales y 10 pacientes coreicos. Sus valores promedios y sus desviaciones standard fueron de $4,41 \pm 1,45 \mu$ g x mg de creatinina para los controles y de $4,96 \pm 1,95$ para los coreicos. Al realizar la prueba de t no se obtuvo ninguna diferencia significativa entre ambos grupos ($t=0,78$; $0,5 > P > 0,4$).

En la tabla 3 se muestran las concentraciones del ácido 5-hidroxiindolacético obtenidas en 13 individuos normales y 10 pacientes coreicos. Los promedios y las desviaciones standard fueron de $5,61 \pm 2,24 \mu$ g/mg de creatinina para los controles y $6,04 \pm 1,34$ para los coreicos. El análisis de la t no reveló ninguna diferencia entre ambos grupos ($t=0,54$; $0,6 > P > 0,5$).

Los coeficientes de correlación calculados para las concentraciones de los ácidos vanililmandélico y homovanílico fueron + 0,34 para los controles y + 0,51 para los coreicos. En ninguno de los casos la correlación fue significativa ($P=0,13$ para los normales y $P=0,08$ para los coreicos). El 95% de intervalo de confianza para P (coeficiente de correlación de la población) se extiende desde -0,27 hasta +0,74 para los controles y desde -0,25 hasta +0,85 para los coreicos.

TABLA I
EXCRECION URINARIA DE ACIDO HOMOVANILICO EN LA
COREA DE HUNTINGTON

CONTROLES NORMALES						COREA DE HUNTINGTON			
Nº	SUJETO	SEXO	EDAD (AÑOS)	ACIDO HOMOVANILICO (µg/mg CREATININA)	Nº	PACIENTE	SEXO	EDAD (AÑOS)	ACIDO HOMOVANILICO (µg/mg CREATININA)
1	P.A.C.	M	17	6.59	1	R.Q.	F	40	9.43
2	M.T.R.	F	40	6.64	2	C.V.	F	43	4.26
3	C.E.G.	M	55	4.23	3	J.P.	M	27	7.42
4	Y.C.L.	M	17	6.11	4	A.P.	M	28	4.18
5	H.L.	M	72	5.73	5	I.P.	M	32	9.91
6	R.F.H.	M	33	6.42	6	A.B.S.	M	46	2.68
7	C.B.S.	F	17	7.53	7	A.B.	F	35	5.64
8	R.A.Z.	M	19	3.76	8	O.P.	M	36	6.35
9	R.P.	M	19	7.57	9	A.E.L.	F	35	8.76
10	O.P.	M	18	2.59					
11	J.M.M.	M	19	5.20					
12	C.C.	F	17	10.22					
13	J.C.	F	49	6.50					
14	E.R.	F	19	9.54					
MEDIA ± DS=6.33 ± 2.06					MEDIA ± DS=6.51 ± 2.55				

TABLA 2
EXCRECION URINARIA DE ACIDO VANILMANDELICO EN LA
COREA DE HUNTINGTON

CONTROLES NORMALES						COREA DE HUNTINGTON			
Nº	SUJETO	SEXO	EDAD (AÑOS)	ACIDO VANILMANDELICO (µg/mg CREATININA)	Nº	PACIENTE	SEXO	EDAD (AÑOS)	ACIDO VANILMANDELICO (µg/mg CREATININA)
1	P.A.C.	M	17	3.63	1	R.Q.	F	40	3.48
2	M.T.R.	F	40	3.61	2	C.V.	F	43	3.65
3	M.R.	F	16	6.35	3	T.P.	M	27	5.30
4	Y.C.L.	M	17	5.37	4	A.P.	M	28	3.40
5	H.L.	M	72	6.08	5	I.P.	M	32	5.33
6	R.F.H.	M	33	3.57	6	A.B.S.	M	46	2.70
7	C.B.S.	F	17	4.87	7	A.B.	F	35	6.47
8	R.A.Z.	M	19	2.92	8	L.CH.	F	30	6.54
9	R.P.	M	19	4.09	9	O.P.	M	36	3.70
10	O.P.	M	18	2.42	10	A.E.L.	F	35	8.99
11	J.M.M.	M	19	3.16					
12	C.C.	F	17	4.06					
13	J.C.	F	49	7.17					
MEDIA ± DS=4.41 ± 1.45					MEDIA ± DS=4.96 ± 1.95				

TABLA 3
EXCRECION URINARIA DE ACIDO 5-HIDROXINDOLACETICO EN LA
COREA DE HUNTINGTON

CONTROLES NORMALES					COREA DE HUNTINGTON				
Nº	SUJETO	SEXO	EDAD (AÑOS)	ACIDO 5-HIDROXIINDOLACETICO (µg/mg CREATININA)	Nº	PACIENTE	SEXO	EDAD (AÑOS)	ACIDO 5-HIDROXIINDOLACETICO (µg/mg CREATININA)
1	P.A.C.	M	17	3.32	1	R.Q.	F	40	4.71
2	M.T.R.	F	40	4.87	2	C.V.	F	43	3.96
3	C.E.G.	M	55	8.17	3	T.P.	M	27	5.58
4	Y.C.L.	M	17	4.68	4	A.P.	M	28	4.90
5	F.B.L.	M	20	3.56	5	I.P.	M	32	6.95
6	R.F.H.	M	33	6.25	6	L.CH.	F	30	5.76
7	C.B.S.	F	17	10.75	7	A.B.S.	M	46	6.85
8	R.A.Z.	M	19	4.59	8	A.B.	F	35	8.10
9	R.P.	M	19	4.85	9	O.P.	M	36	5.91
10	O.P.	M	18	3.20	10	A.E.L.	F	35	7.69
11	J.M.M.	M	19	4.11					
12	C.C.	F	17	6.88					
13	J.C.	F	49	7.73					
MEDIA ± DS = 5.61 ± 2.24					MEDIA ± DS = 6.04 ± 1.34				

Se observó una correlación estadísticamente significativa entre las concentraciones del ácido vanililmandélico y las del ácido 5-hidroxiindolacético ($N = 11$, $r = 0,58$, $P = 0,03$ para los controles; $N = 10$, $r = 0,61$, $P = 0,02$ para los coreicos). El 95% de intervalo de confianza para P comprende desde $-0,06$ hasta $+0,86$ para los normales y desde $-0,04$ hasta $+0,87$ para los coreicos.

La correlación entre las concentraciones de los ácidos homovanílico y 5-hidroxiindolacético fue positiva y significativa para los controles normales ($N = 11$, $r = 0,52$, $P = 0,05$). Sin embargo, en los coreicos no se observó ninguna correlación significativa ($N = 9$, $r = 0,17$, $P = 0,31$). El 95% de intervalo de confianza para P se extiende desde $-0,04$ hasta $+0,84$ para los controles y desde $-0,53$ hasta $+0,73$ para los coreicos.

Fueron calculados también las correlaciones entre las edades de los individuos normales y coreicos y los valores de los metabolitos ácidos. Los coeficientes de correlación entre las concentraciones del ácido homovanílico y las edades fueron negativas pero no significativas ($N = 12$, $r = -0,07$, $P = 0,4$. 95% IC = $-0,6 \rightarrow +0,52$ para los normales; $N = 9$, $r = -0,36$, $P = 0,15$. 95% IC = $-0,8 \rightarrow +0,38$ para los coreicos).

La asociación entre las edades y las concentraciones del ácido 5-hidroxiindolacético reveló los siguientes valores: $N = 11$, $r = +0,22$, $P = 0,24$. 95% IC = $-0,42 \rightarrow +0,73$ para los normales y $N = 10$, $r = -0,05$, $P = 0,43$. 95% IC = $-0,67 \rightarrow +0,62$ para los coreicos. En ninguno de los casos fue significativa.

El coeficiente de correlación entre las concentraciones del ácido vanililmandélico y las edades fue positivo para los controles ($N = 11$, $r = +0,50$, $P = 0,06$. 95% IC = $-0,15 \rightarrow +0,84$) y negativos para los coreicos ($N = 10$, $r = -0,40$, $P = 0,10$. 95% IC = $-0,8 \rightarrow +0,28$).

DISCUSION

Nuestros resultados demuestran una excreción urinaria normal del ácido homovanílico en los pacientes coreicos estudiados. Las concentraciones promedio encontradas son ligeramente superiores a las obtenidas por Williams y col (52) quienes reportaron valores de $5,5 \pm 0,8 \mu\text{g}$ de ácido homovanílico por mg de creatinina, para los controles normales, y $6,2 \pm 1,1$ para los enfermos de Corea de Huntington. Estos hallazgos confirman los reportados previamente por Barbeau y col (7), quienes demostraron una excreción urinaria normal de dopamina en 4 pacientes de Corea de Huntington.

Los niveles normales de ácido homovanílico hallados en estos pacientes parecen sugerir que existe un catabolismo normal de la dopamina en la Corea de Huntington, presunción ésta apoyada por Ehringer y Hornykiewicz (22) quienes reportaron concentraciones normales de dopamina en el cuerpo estriado de los pacientes coreicos. Cotzias y col, sin embargo, han sugerido que la concentración de dopamina por neurona activa está elevada en la Corea, en contraste con la Enfermedad de Parkinson (18).

El ácido homovanílico urinario refleja el catabolismo de la dopamina tanto en los tejidos periféricos como en el sistema nervioso central. Por lo tanto, estos hallazgos pudieran no representar el estado real del metabolismo de la dopamina en el cuerpo estriado de los enfermos de Corea de Huntington. Sin embargo, es bueno recordar que los primeros reportes de las alteraciones de las catecolaminas en la Enfermedad de Parkinson, fueron de estudios realizados en la orina de estos pacientes (7).

Si la normalidad en la excreción urinaria de ácido homovanílico reflejara un metabolismo normal de la dopamina en el cuerpo estriado de los coreicos, se apoyaría la hipótesis formulada por Klawans (28) quien sugirió que en estos enfermos se metabolizan cantidades normales de dopamina que son liberadas hacia los receptores dopaminérgicos del cuerpo estriado los cuales son hipersensibles a la dopamina liberada en concentraciones normales. En estudios realizados recientemente por Birkmayer (10) y por el mismo Klawans (29) se demostraron niveles normales de ácido homovanílico en el líquido cefalorraquídeo de los enfermos de Corea de Huntington.

Se observó una correlación positiva entre las concentraciones del ácido homovanílico y las del ácido 5-hidroxiindolacético, en los controles. Altas concentraciones de ácido homovanílico se correspondieron con valores también elevados del ácido 5-hidroxiindolacético. Correlación positiva y significativa entre ambos metabolitos fue demostrada recientemente por Gottfries y col (25) en el líquido cefalorraquídeo de 29 personas normales. Nuestros hallazgos son de difícil interpretación puesto que semejante correlación no se observó en los pacientes de Corea de Huntington estudiados. Sin embargo, cabe la posibilidad de que las variaciones de ambos metabolitos reflejen la actividad de la Monoaminoxidasa (MAO), enzima asociada con el catabolismo de la dopamina y de la serotonina. En efecto, la transformación de serotonina en 5-hidroxiindolacético está catalizada por esa enzima (44), y la dopamina ha demostrado ser un excelente sustrato para ella. Grandes cantidades de sus metabolitos deaminados (dihidroxifenilacético y homovanílico) se eliminan diariamente por la orina (16). Además, en apoyo de tal suposición están los resultados obtenidos al administrar inhibidores de la Monoaminoxidasa. Después de la inyección de iproniazida o nialamida a conejos o ratones, la droga alcanza rápidamente el cerebro e inhibe la enzima produciendo

aumento en las concentraciones cerebrales de noradrenalina, dopamina y serotonina (33).

A diferencia de los reportes (en líquido cefalorraquídeo) de Bowers y Gerbode (11) y de Gottfries y col (25) no pudimos demostrar ninguna correlación positiva significativa entre los niveles de los ácidos homovanílico y 5-hidroxiindolacético y las edades de los individuos. Nuestras diferencias pudieron ser debidas al hecho de que nuestro rango de edades fue muy limitado en ambos casos (en los estudios de ácido homovanílico la edad media $\pm$ DS fue $29,4 \pm 17,9$ años para los normales y $35,8 \pm 6,4$ años para los coreicos; para 5-hidroxiindolacético se obtuvo una edad media de $26,2 \pm 13,5$ años para los normales y de $35,2 \pm 6,3$ para los coreicos); mientras que los estudiados por Gottfries y col fueron divididos en 2 grandes grupos: a) jóvenes, con una edad promedio de $25,89 \pm 9,05$ años y rango de 18-54 años y b) viejos con edades promedio de $75,08 \pm 2,5$ y rango de 71-81 años. Sus resultados indican que el factor edad debe ser tomado en consideración, como fuente de variación, sólo en individuos de más de 50 años. En nuestra casuística apenas presentamos una persona con edad superior a ese límite.

Los valores de ácido vanililmandélico parecen demostrar que no existe ninguna anomalía en el metabolismo de la norepinefrina y de la epinefrina en esta enfermedad. Estos resultados y su significación fisiopatológica deben ser interpretados con cautela en virtud de ser el ácido vanililmandélico un metabolito común en el catabolismo de la epinefrina y de la norepinefrina (3). Eso explica en parte las diferencias en los valores reportados para la norepinefrina urinaria en la Corea de Huntington (27, 45, 46). Además, ya hemos mencionado que sólo un pequeño porcentaje del ácido vanililmandélico urinario procede del sistema nervioso central.

Los incrementos en las concentraciones de ácido vanililmandélico se acompañaron de aumento en los valores de ácido 5-hidroxiindolacético tanto en los controles como en los coreicos. Esta correlación positiva, y estadísticamente significativa, puede ser explicada también en base a la actividad de la Monoaminoxidasa que interviene en la formación de ambos metabolitos.

A pesar de que no se demostró una correlación estadísticamente significativa entre los ácidos vanililmandélico y homovanílico los valores de "r" fueron relativamente elevados y positivos. Como se ve, las concentraciones de todos estos metabolitos varían en el mismo sentido.

No se demostró ninguna correlación significativa entre las edades de los individuos y las cifras de ácido vanililmandélico, aunque en los controles la probabilidad se aproximó mucho al límite de significación.

Entre las concentraciones del ácido 5-hidroxiindolacético en los controles y en los pacientes de Corea de Huntington no hubo ninguna diferencia; nuestros hallazgos comprueban los realizados en otro laboratorio (45, 46). Oliphant y col (35) midieron indoles urinarios en 3 pacientes coreicos y 2 normales, pero no pudieron demostrar ninguna diferencia cuantitativa. Ruge y Oepen (39) realizaron estudios con cromatografía de papel, de 26 ácidos fenólicos y 17 indoles en la orina de 9 pacientes con Corea de Huntington y no encontraron ninguna anomalía al compararlos con 6 personas normales; Chase y col (19) confirmaron estos hallazgos en líquido cefalorraquídeo. Sin embargo, estudios recientes realizados en gatos demuestran que el ácido 5-hidroxiindolacético en el líquido cefalorraquídeo se origina de la médula espinal y refleja los cambios metabólicos de la 5-hidroxitriptamina de la médula pero no la del cerebro (12). En suma, los resultados reportados por nosotros también parecen rechazar la hipótesis de que las neuronas centrales serotoninérgicas desempeñan un papel crucial en la patogenia de la Enfermedad de Huntington.

AGRADECIMIENTO

Al Dr. Américo Negrette, cuyo interés fue fundamental para la realización de este trabajo. A los técnicos químicos Carlos Valbuena y José Omar Dávila, por su eficiente trabajo técnico.

Homovanillic, 5-hydroxyindoleacetic and vanilmandelic acid in urine of patients with Huntington's Chorea.

Bonilla E (Instituto de Investigación Clínica, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela). Invest Clín 14 (1):24-41, 1973 - Ten patients with Huntington's Chorea and fourteen healthy volunteers were studied. A normal urinary excretion of homovanillic acid, 5-hydroxyindoleacetic acid and vanilmandelic acid was observed in all patients. Significant positive correlations between the concentrations of homovanillic acid and those of 5-hydroxyindoleacetic acid, in the control group and between the concentrations of vanilmandelic and 5-hydroxyindoleacetic acid in the choreic group and in the control group was demonstrated. Presumably, these variations reflect the activity of Monoaminooxidase, enzyme associated with the catabolism of dopamine, serotonin, epinephrine and norepinephrine.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- AGHAJANIAN GK, ASHER IM: Histochemical fluorescence of raphe neurons: selective enhancement by tryptophan. Science 172: 1159-1160, 1971.

- 2- ANDEN NE, DAHLSTROM A, FUXE K: Ascending monoamine neurons to the telencephalon and diencephalon. *Acta Physiol Scand* 67: 313-326, 1966.
- 3- ARMSTRONG MD, MCMILLAN A, SHAW KNF: 3-methoxy-4-hydroxy-D-mandelic Acid, a urinary metabolite of norepinephrine. *Biochim Biophys Acta* 25: 422, 1957.
- 4- AXELROD J, KOPIN IJ, MAN JD: 3-Methoxy-4-hydroxyphenylglycol sulphate, a new metabolite of epinephrine and norepinephrine. *Biochim Biophys Acta* 36: 576, 1959.
- 5- BANCROFT H: *Introducción a la bioestadística*. Buenos Aires, Editorial Universitaria de Buenos Aires, 1961.
- 6- BARBEAU A: Preliminary observations on abnormal catecholamine metabolism in basal ganglia diseases. *Neurology* 10: 446-451, 1960.
- 7- BARBEAU A, MURPHY G, SOURKES TL: Excretion of dopamine in diseases of basal ganglia. *Science* 133: 1706-1707, 1961.
- 8- BARBEAU A: Dopamine and basal ganglia diseases. *Arch Neurol* 4: 97-102, 1961.
- 9- BERTLER A, ROSENGREN E: Occurrence and distribution of dopamine in brain and other tissues. *Experientia (Basel)* 15: 10-11, 1959.
- 10- BIRKMAYER W: The alphas-methyl-p-tyrosine effect in extrapyramidal disorders. *Wien Klin Wschr* 81: 10-16, 1969.
- 11- BOWERS MB, GERBODE FA: Relationship of monoamine metabolites in human cerebrospinal fluid to age. *Nature* 219: 1256-1257, 1968.
- 12- BULAT M, ZIUKOVIC B: Origin of 5-hydroxyindoleacetic acid in the spinal fluid. *Science* 173: 738-740, 1971.
- 13- CALNE DB: *Parkinsonism: physiology, pharmacology and treatment*. (Arnold E, ed) London, 1970, pp 61-62.
- 14- CARLSSON A, LINDQVIST M, MAGNUSSON T, WALDECK B: On the presence of 3-hydroxytyramine in brain. *Science* 127: 471, 1958.
- 15- CONTRACTOR SF: A rapid quantitative method for the estimation of 5-hydroxyindoleacetic acid in human urine. *Biochem Pharm* 15: 1701-1706, 1966.

- 16- COOPER JR, BLOOM FE, ROTH RH: The biochemical basis of neuropharmacology. New York, University Press, 1970, p 123.
- 17- COTZIAS GC, VAN WOERT MH, SCHIFFER LM: Aromatic amino acids and modification of Parkinsonism. *New Eng J Med* 276: 374-379, 1967.
- 18- COTZIAS GC, PAPAVALILIOU PS, GELLEN R: Modification of Parkinsonism, chronic treatment with L-DOPA. *New Eng J Med* 280: 337-344, 1969.
- 19- CHASE TN, WATANABE AM, BRODIE HKH, DONNELLY EF: Huntington's Chorea. Effects of serotonin depletion. *Arch Neurol* 26: 282-284, 1972.
- 20- DA PRADA M, PLETSCHER A: On the mechanism of clorpromazine-induced changes of cerebral homovanillic acid levels. *J Pharm Pharmacol* 18: 628-630, 1966.
- 21- DUN OJ: Basic statistics: A primer for the Biomedical Science. New York, John Wiley & Sons, Inc, 1967.
- 22- EHRINGER H, HORNYKIEWICZ O: Verteilung von Noradrenalin und Dopamin (3-Hydroxytyramin) im Gehirn des Menschen und ihr Verhalten bei Erkrankungen des extrapyramidalen system. *Klin Wochschr* 38: 1236-1239, 1960.
- 23- EVERETT GM, BORCHERDIN JW: L-Dopa: Effect on concentration of dopamine, norepinephrine and serotonin in brains of mice. *Science* 168: 849-850, 1970.
- 24- GITLOW SE, MENDLOWITZ M, BERTANI LM, WILK EK: Human norepinephrine metabolism. Its evaluation by administration of tritiated norepinephrine. *J. Clin Invest* 50: 859-865, 1971.
- 25- GOTTFRIES CG, GOTTFRIES I, JOHANSSON B, OLSSON R, PERSSON T, ROOS BE, SJOSTROM R: Acid monoamine metabolites in human cerebrospinal fluid and their relation to age and sex. *Neuropharm* 10: 665-672, 1971.
- 26- GREEN H, GREENBERG SM, ERICKSON RW, SAWYER JL, ELLISON T: Effect of dietary phenylalanine and tryptophan upon rat brain amine levels. *J Pharmacol Exper Therap* 136: 174-178, 1962.
- 27- HORNYKIEWICZ O: Dopamine (3-hydroxytyramine) and brain function. *Pharmacol Rev* 18: 925-957, 1966.

- 28- KLAWANS HL: A pharmacologic analysis of Huntington's Chorea. *Europ Neurol* 4: 148-163, 1970.
- 29- KLAWANS HL: Cerebrospinal fluid homovanillic acid in Huntington's Chorea. *J Neurol Sci* 13: 277-279, 1971.
- 30- LAZARTE JA, PETERSEN MC, BAARS CW, PEARSON JS: Huntington's Chorea. Results of treatment with reserpine. *Mayo Clin Proc* 30: 358-365, 1955.
- 31- LEE DK, MARKHAM CH, CLARK WG: Serotonin (5-HT) metabolism in Huntington's Chorea. *Life Sci* 7: 707-712, 1968.
- 32- MAAS JW, LANDIS DH: In vivo studies of the rates of appearance in urine of metabolites of brain norepinephrine. *Fed Proc* 26: 463, 1967.
- 33- MCILWAIN H: *Biochemistry and the central nervous system*. Boston, Little, Brown, and Company, 1966, p 321.
- 34- NEGRETTE A: *Corea de Huntington*. Maracaibo, Talleres Gráficos de la Universidad del Zulia, 1962, pp 119-139.
- 35- OLIPHANT J, EVANS JL, FORREST AD: Huntington's Chorea, some biochemical and therapeutic aspects. *J Ment Sci* 106: 718-725, 1960.
- 36- O'REILLY S, LONCIN M, COOKSEY B: Dopamine and basal ganglia disorders. *Neurology* 15: 980-984, 1965.
- 37- OSER BL: *Hawk's physiological chemistry*. New York, The Blakiston Division, Mc Graw-Hill Book Company, 1965, pp 1233-1236.
- 38- PETIT H: *La Maladie de Huntington*. (Masson et C^{ie}, ed) Bruxelles, 1969, pp 128-130.
- 39- RUGE W, OEPEN H: Phenolsauren und Indole im Urin bei Huntingtonscher Chorea. *Humangenetik* 1: 296-298, 1965.
- 40- SANO I, GAMO T, KAKIMOTO Y, TANIGUCHI K, TAKESADA M, NISHINUMA K: Distribution of catechol compounds in human brain. *Biochem Biophys Acta* 32: 586-587, 1959.
- 41- SATO TL: The quantitative determination of 3-methoxy-4-hydroxyphenylacetic acid (homovanillic acid) in urine. *J Lab Clin Med* 66: 517-525, 1965.

- 42- SCHANBERG SM, SCHILDKRAUT JJ, KOPIN IJ: Normetanephine- H^3 (NM- H^3) turnover and conversion to a deaminated conjugate as a major metabolite in rat brain. *Fed Proc* 26: 464, 1967.
- 43- SCHANBERG SM, SCHILDKRAUT JJ, BREESE GR, KOPIN IJ: Metabolism of normetanephine- H^3 in rat brain: Identification of conjugated 3-methoxy-4-hydroxy-phenylglycol as the major metabolite. *Biochem Pharmacol* 17: 247, 1968.
- 44- SCHILDKRAUT JJ: Biochemistry, schizophrenias and affective illnesses. (Himwich HE, ed) Baltimore, The Williams & Wilkins Co, 1970, p 201.
- 45- SOURKES TL: Cerebral and other diseases with disturbance of amine metabolism. *Prog Brain Res* 8: 186-200, 1964.
- 46- SOURKES TL: Monoamines in Huntington's Chorea in Wilson's Disease. En *L-Dopa and Parkinsonism*. (Barbeau A y McDowell FH, ed) Philadelphia, FA Davis Company, 1970, pp 75-77.
- 47- VON EULER US: A specific sympathomimetic ergone in adrenergic nerve fibers (sympathin) and its relation to adrenaline and noradrenaline. *Acta Physiol Scand* 12: 73-97, 1946.
- 48- VON EULER US: Noradrenaline. *Metabolism of the Nervous System* (Richter ed) Oxford, Pergamon Press, 1957, pp 543-552.
- 49- WHITTIER J, HAYDN G, CRAWFORD J: Effect of imipramine (Tofranil) on depression and hyperkinesia in Huntington's disease. *Amer J Psychiat* 118: 79, 1961.
- 50- WHITTIER JR, KORENYI C: Effect of oral fluphenazine on Huntington's Chorea. *Int J Neuropsychiat* 4: 1-3, 1968.
- 51- WILK S, SHOPSIN B, GERSHON S, SUHL M: Cerebrospinal fluid levels of MHPG in affective disorders. *Nature* 235: 440-441, 1972.
- 52- WILLIAMS CM, MAURY S, KIBLER RF: Normal excretion of homovanillic acid in the urine of patients with Huntington's Chorea. *J Neurochem* 6: 254-256, 1961.
-