

ALCAPTONURIA: REPORTE DE DOS CASOS

Ernesto Bonilla* y Tito Rincón**

RESUMEN

Se estudió un niño de un mes de nacido que fue llevado a consulta médica por presentar orinas oscuras. Los estudios cromatográficos y espectrofotométricos confirmaron el diagnóstico presuntivo de Alcaptonuria. La alteración metabólica fue demostrada también en el padre. Estos hallazgos parecen sugerir una forma de transmisión de carácter dominante. Se discute la importancia de los ensayos específicos para detectar el ácido homogentísico urinario, pues los ensayos no específicos pueden originar falsos negativos.

La alcaptonuria es una enfermedad metabólica rara caracterizada por ausencia de la enzima oxidasa del ácido homogentísico. (homogentisate: oxygen oxidoreductase, EC 1.13.1.5) (7). Este ácido se produce a partir de la tirosina mediante una serie de reacciones catalíticas que conducen finalmente a la formación de los ácidos fumárico y acetoacético (fig. 1).

La orina de los alcaptonúricos se caracteriza porque al contacto con el aire, toma un color marrón oscuro, producto de la oxidación y polimerización del ácido homogentísico, con formación de un compuesto

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

** Hospital General del Sur, Maracaibo, Venezuela.

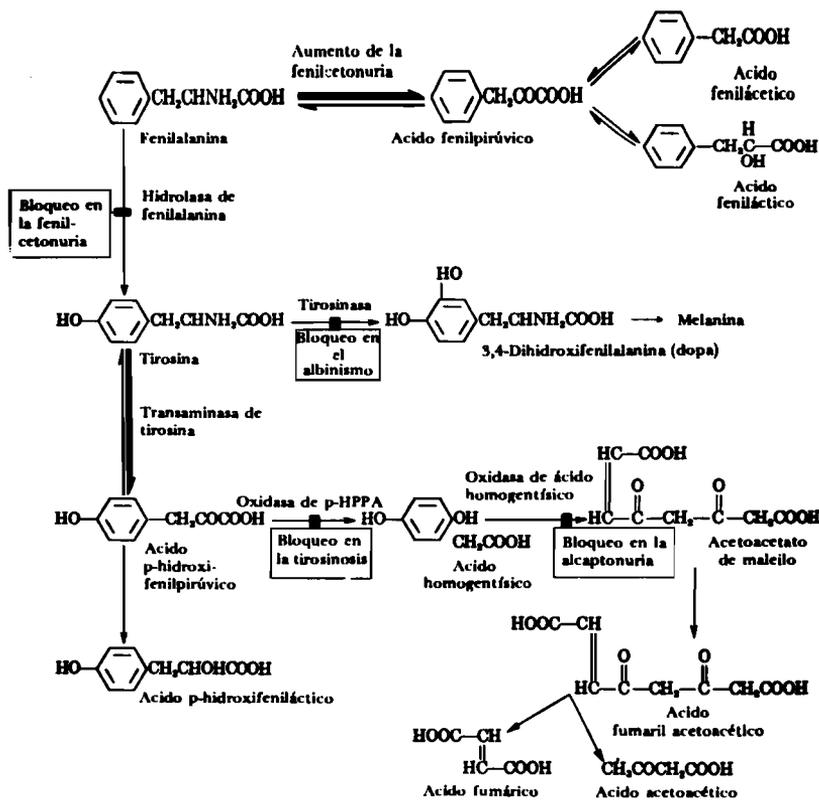


Fig. 1

parecido a la melanina. En los individuos normales no se elimina este ácido por la orina sino que es totalmente metabolizado por los tejidos, principalmente por el hígado (4). Con el correr de los años la pigmentación se va extendiendo a los tejidos, hasta generalizarse. Inicialmente puede ocurrir una ligera pigmentación de la esclerótica o de los lóbulos de las orejas, aunque estos cambios raramente se notan antes de la segunda o tercera década de la vida. El pigmento puede aparecer en el sudor, y la piel puede presentar manchas ocrónicas en la región axilar y genital. Luego se invaden los cartílagos de otras áreas (costal, laríngea y traqueal) y tejidos fibrosos (tendones y ligamentos). Tardíamente aparece la artritis ocrónica la cual es mas severa en los hombres que en las mujeres. Los síntomas iniciales se suceden en las rodillas y en los hombros. Generalmente hay períodos de inflamación aguda que recuerdan a la artritis reumatoidea y finalmente hay limitación marcada de los movimientos articulares y anquilosis de la región lumbosacra (4).

El primer caso con diagnóstico comprobado de esta enfermedad fue

descrito por Boedeker (4) en 1859 y es a este autor a quien se debe el nombre de la afección.

En 1891, Wolkow y Bowmann (4) establecieron la estructura química del compuesto (2,5-dihidroxifenilacético). Lo denominaron ácido homogentísico por su relación estructural con el ácido gentísico (2,5-dihidroxibenzoico).

En su clásica obra "Errores Innatos del Metabolismo", Garrod discutió esta enfermedad y desarrolló sus conceptos sobre las enfermedades metabólicas hereditarias. Según este autor, y la experiencia parece confirmarlo, la alcaptonuria es transmitida por un gen autosómico recesivo. Decía: "Podemos concebir que la ruptura del anillo benzénico en el metabolismo normal es el trabajo de una enzima especial, ausente en la alcaptonuria congénita" (4). La suposición de Garrod ha sido confirmada por La Du y col (5) mediante ensayos bioquímicos en preparaciones de hígado de alcaptonúricos.

En nuestro país se han reportado muy pocos casos de alcaptonuria. El último fue estudiado hace unos tres años por Moreno y Montiel (8)

MATERIAL Y METODO

Historia Clínica

EA, paciente de sexo masculino de 30 días de edad,, producto del primer embarazo simple, a término. Parto: eutócico. La madre es oriunda de la Isla de Trinidad y de ascendencia portuguesa. El padre es natural de Venezuela. No existe ningún nexo de consanguinidad entre los padres y la historia familiar no reveló ninguna información útil. Desde los primeros días de nacido la orina emitida por el niño, aunque de aspecto normal, cambiaba de color al contacto con el aire. Los pañales adquirían un tinte ocre el cual se hacía más evidente al lavarlos con los jabones comerciales corrientes. Además, el niño presentaba evacuaciones diarreicas, de aspecto fermentativo que se producían cuando ingería leche de vaca. Fue llevado a consulta médica en la cual se recomendó sustituir la leche de vaca por una leche hipoalérgica con proteínas de harina de soya. Con esta alimentación desaparecieron las evacuaciones diarreicas.

Un nuevo examen realizado varios días después no reveló ninguna anomalía física aunque persistían sus manifestaciones urinarias. El desarrollo pondoestatural ha sido satisfactorio desde el momento en que se corrigieron las evacuaciones.

Una vez corregidas las manifestaciones diarreas procedimos a estudiar el paciente a fin de confirmar el diagnóstico presuntivo de Alcaptonuria.

Método

Se tomaron varias muestras de orina recién emitida tanto del paciente como de sus progenitores y a continuación se procedió a la realización de los siguientes ensayos:

1— Examen completo de orina: aspecto, densidad, pH, presencia de pigmentos biliares, glucosa, albúmina y elementos formes.

2— Estudio hematológico: fórmula leucocitaria, hemoglobina, hematocrito y conteo plaquetario.

3— Pruebas no específicas para el ácido homogentísico.

a) Se tomó una muestra de orina y se dejó a la temperatura ambiente en contacto con el aire para observar la producción de cambios de coloración (4).

b) Se estudió la rapidez de oxidación del ácido homogentísico al agregarle 5 gotas de 5N NaOH, a una muestra de orina (10).

c) Se observó si la orina producía fluorescencia al colocarla en la luz ultravioleta (11).

d) Se realizaron ensayos con cloruro férrico según el procedimiento descrito por Henry (2).

4— Pruebas específicas para el ácido homogentísico.

a) **Cromatografía en papel:** Las muestras de orina fueron concentradas antes de realizar la cromatografía en papel; una muestra de 10 ml se ajustó a pH 4 con HCl diluido y el ácido homogentísico se extrajo con 20 ml de éter dietílico. La fase etérea se transfirió a un segundo tubo y se evaporó al vacío. El residuo se disolvió en 0,1 ml de etanol absoluto (20 microlitros de esta solución equivalen a 1 ml de la orina original) (2). La solución control de ácido homogentísico se preparó disolviendo 5 mg del ácido en 10 ml de etanol. A continuación se practicó una cromatografía ascendente en butanol-ácido acético-agua (4:1:5 por vol) por 8 horas. El ácido homogentísico reducido se hizo visible con nitrato de plata amoniacal al 5% (5 g AgNO₃ más 10 ml NH₄OH, diluidos a 100 ml con agua destilada). (1).

b) La concentración del ácido homogentísico urinario se determinó mediante el método colorimétrico de Briggs descrito por Hsia e Inouye (3).

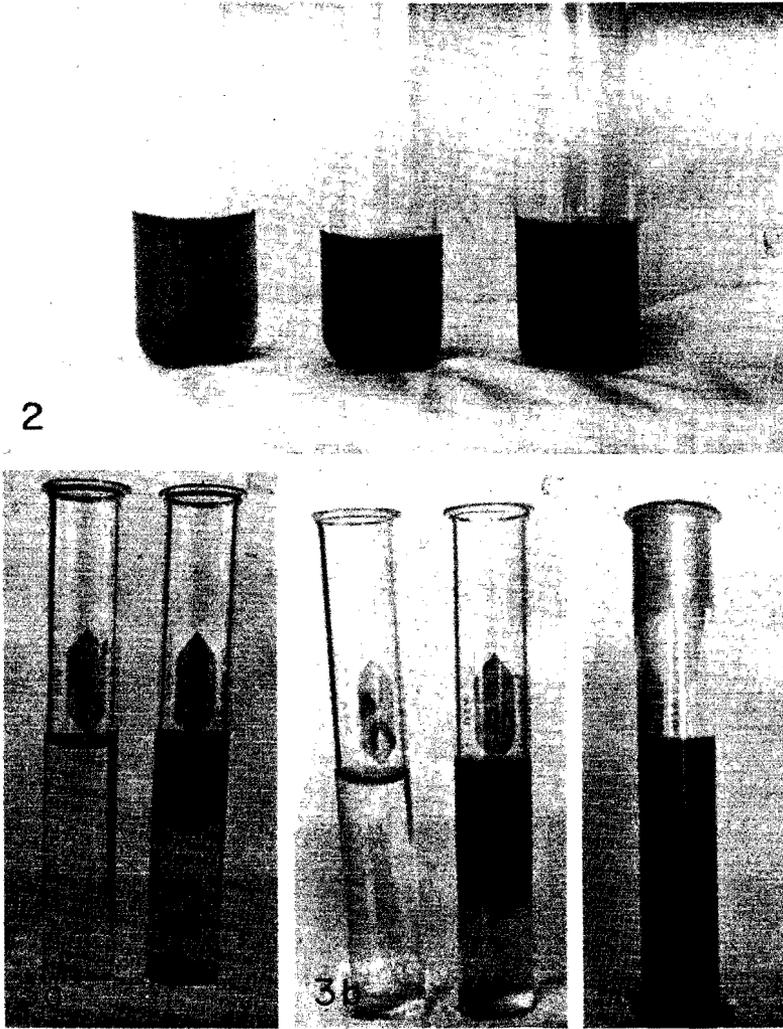
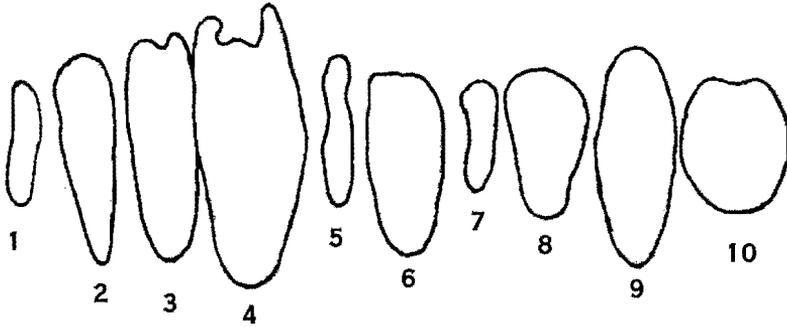
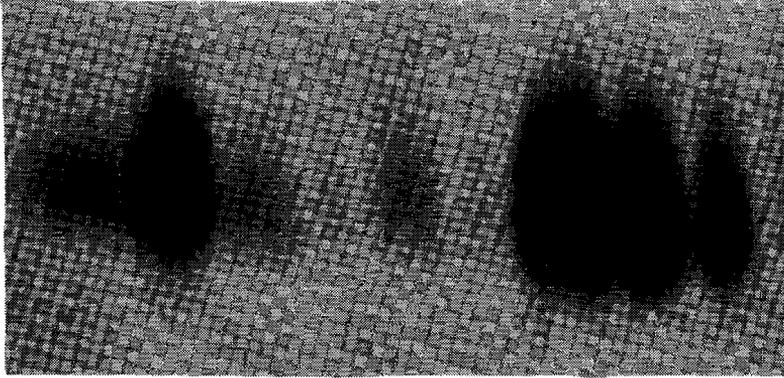


Fig. 2 y 3

RESULTADOS

El estudio hematológico del paciente fue normal. Se examinaron varias muestras de orina recogidas con intervalos de varios días. Una de

esas muestras tenía coloración normal y reacción ácida; no se detectó glicosuria ni albuminuria. Cuatro horas después de emitida presentaba el mismo aspecto, sin cambio aparente de coloración. A los diez minutos después de agregarle NaOH, la orina del niño adquirió un color ocre muy manifiesto. La de los padres no sufrió ninguna modificación (Fig. 2).



- | | |
|---------|------------|
| 1 PADRE | 6 STANDARD |
| 2 NIÑO | 7 PADRE |
| 3 NIÑO | 8 STANDARD |
| 4 NIÑO | 9 NIÑO |
| 5 PADRE | 10 PADRE |

Fig. 4

Una nueva muestra de la orina del paciente, de reacción ligeramente alcalina (pH 7,6), a las cuatro horas después de emitida ya presentaba un cambio de coloración hacia un tinte marrón oscuro. El proceso comenzó en la superficie y avanzó con el correr del tiempo, hasta el fondo del tubo (Fig. 3).

El agregado de cloruro férrico 0,6 M produjo un cambio rápido de coloración, hacia un tinte verde oscuro.

No se observó ninguna fluorescencia del espécimen al exponerla a la luz ultravioleta. La reacción de Benedict fue negativa.

El estudio cromatográfico demostró la presencia del ácido homogentísico tanto en la orina del niño como en la de su padre (Fig. 4). El Rf encontrado fue de 0.8. La determinación cuantitativa del ácido homogentísico en la orina del niño reveló concentraciones de 0,78 u moles/ml. En el padre se encontraron niveles de 0,22 u mol/ml y la orina de la madre fue negativa.

DISCUSION

Después de emitida, la orina de los pacientes alcaptonúricos, tarda varias horas en obscurecerse, excepto cuando es alcalina, o cuando el sujeto padece de deficiencia de vitamina C (7). Esto explica la observación, en nuestro paciente, de retardos en el cambio de coloración urinaria según el grado de acidez o de alcalinidad. A mayor alcalinidad mayor rapidez en el cambio de coloración. Los jabones comerciales, de reacción alcalina, aceleran este proceso.

A pesar de que en el niño la prueba con cloruro férrico fue positiva, señalando la posibilidad de la presencia de ácido homogentísico, merece atención particular la ausencia de fluorescencia en la luz ultravioleta, prueba ésta que se describe como demostrativa de la presencia de este ácido. Frohlich y col (1) no confirman esta suposición ya que, al parecer, la causa de esa fluorescencia es el ácido gentísico derivado del ácido acetilsalicílico que es ingerido continuamente por los enfermos de artropatía ocrónica. Desde el punto de vista anatomopatológico, la artropatía ocrónica se caracteriza, como ya se ha señalado por el depósito de un pigmento oscuro (producido por la polimerización del ácido homogentísico) en la esclerótica, cartílagos, piel y otros tejidos (4).

La presencia del ácido homogentísico en la orina del padre (quien no tiene historia de cambios de coloración en la orina, ni de manifestaciones articulares) confirma la suposición de que en un gran número de pacientes alcaptonúricos, la orina emitida no se colorea al contacto con el aire. Por otro lado, estos estudios conducen a ser mas cautelosos con los ensayos no específicos pues éstos pueden ser negativos en pacientes alcaptonúricos.

En condiciones normales no debe detectarse el ácido homogentísico en la orina. Más aún, la administración de hasta 5 g del compuesto, a adultos normales, no se acompaña de su eliminación urinaria (6). El

ácido homogentísico es excretado en los alcaptonúricos mediante un proceso combinado de filtración glomerular y secreción tubular (9). En estos pacientes se observan concentraciones muy bajas de este ácido en el plasma y en los tejidos lo cual se debe, en primer lugar, a la gran capacidad hepática y renal para metabolizarlo y en segundo lugar, a su excreción renal (9), procesos que pueden ser altamente importantes aún en los pacientes alcaptonúricos ya que se requieren muchos años para que en ellos aparezca la ocronosis.

Es posible que la intolerancia a la leche de vaca observada en este paciente sea un fenómeno independiente, coincidente con el proceso alcaptonúrico. No conocemos reportes de este tipo de asociación, pero sí de otros. En efecto, Rosenbaum y Reveno encontraron este error metabólico en un paciente con policitemia. También se ha descrito la alcaptonuria asociada a una enfermedad renal severa denominada "nefrosis ocronótica" (4).

Casi todos los casos conocidos de alcaptonuria son el resultado de la herencia de un gen autosómico recesivo. Existen ejemplos que parecen representar formas dominantes de la enfermedad aunque éstas son debidas posiblemente al matrimonio entre homocigotos y heterocigotos y a la frecuencia de los heterocigotos en la población general. En nuestros casos se observa una forma de transmisión con características dominantes, aunque no podemos aventurarnos más allá de esta suposición en virtud de la imposibilidad de estudiar los ascendientes.

AGRADECIMIENTO

Al técnico químico José Omar Dávila por su excelente asistencia técnica.

Alcaptonuria: Report of two cases.

Bonilla E (Instituto de Investigación Clínica, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela), Rincón T. *Invest Clin* 15: 30-38, 1974.— Two individuals (father and son) with presuntive diagnosis of alcaptonuria were studied with paper chromatography and spectrophotometric procedures and the diagnosis was confirmed. In these cases a dominant form of alcaptonuria should be considered although we were unable of getting more information about the entire family pedigree. The importance of the specific assays against the no specific ones is discussed, since the latter could yield false negatives.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- FROHLICH J, PRICE GE, CAMPBELL DJ: Problems in the laboratory diagnosis of alcaptonuria. *Clin Chem* 19: 770-773, 1973.
 - 2- HENRY JR: *Clinical Chemistry. Principles and techniques.* New York, Harper and Row, 1964.
 - 3- HSIA DYY, INOUE T: *Inborn errors of metabolism. Laboratory methods.* Chicago, Year Book Medical Publishers, 1966, p 73.
 - 4- LA DU BN: Alcaptonuria, *Metabolic Basis of Inherited Disease* (Stanbury JB, Wyngaarden JB, and Fredrickson DS, ed) New York, McGraw Hill, 1966, chapter 13.
 - 5- LA DU BN, ZANNONI VG, LASTER L, SEEGMILLER JE: The nature of the defect in tyrosine metabolism in alcaptonuria. *J Biol Chem* 230: 251-260, 1958.
 - 6- LEAF G, NEUBERGER A: The preparation of homogentisic acid and 2,5-dihydroxyphenylethylamine. *Biochem J* 43: 606, 1948.
 - 7- LYNCH MJ, RAPHAEL SS, MELLOR LD, SPARE PD, INWOOD MJH: *Métodos de Laboratorio.* México, Interamericana, 1972, p 505.
 - 8- MORENO H, MONTIEL R: Alcaptonuria: estudio clínico y cromatográfico de un caso lactante: reporte preliminar. XIV Jornadas Nacionales de la Sociedad Venezolana de Puericultura y Pediatría, Ciudad Guayana. Edo Bolívar, 8 al 13 de Noviembre de 1971.
 - 9- NEUBERGER A, RIMINGTON C, WILSON JMW: Studies in alcaptonuria. II. Investigations on a case of human alcaptonuria. *Biochem J* 41: 438, 1947.
 - 10- WHITE A, HANDLER P, SMITH EI: *Principles of Biochemistry.* New York, Mc Graw-Hill, 1968, p 608.
 - 11- ZIMMERMANN KG, ADOLPHSEN P, LENZ H, SIGENHALTER W: Alcaptonurie und ochronose. *Detsch Med Wochenschr* 97: 242-244, 1972.
-