

Pesquisaje de heterocigotía en la familia de un niño alcaptonúrico

Por los Dres.:

MANUEL PEÑA,* JOSÉ ANTONIO PAGÉS,* MANUEL AMADOR,**
Téc.: HUMBERTO PÉREZ***

Peña, M. et al. *Pesquisaje de heterocigotía en la familia de un niño alcaptonúrico*. Rev Cub Ped 46: 6, 1974.

Se reporta un caso de alcaptonuria en un niño de 20 meses de edad y se demuestra, mediante cromatografía en papel, la presencia de ácido homogentísico en la orina del paciente. Se realiza un estudio de la familia y pruebas de sobrecarga de fenilalanina a los padres (heterocigotos verdaderos) con el fin de establecer un método para diagnosticar otros heterocigotos, siendo los resultados no satisfactorios, tal como se confirma por lo que reportan otros autores.

INTRODUCCION

La alcaptonuria es uno de los errores congénitos del metabolismo de los aminoácidos aromáticos, fenilalanina y tirosina, transmitido por un gen autosómico recesivo que determina una ausencia de la enzima homogentísicoxidasa con el consecuente acúmulo y posterior eliminación urinaria del ácido homogentísico (Fig. 1).

Scribonius en el año 1584 notificó un niño de edad escolar, saludable, que excretaba orinas de color oscuro.¹

*Schenk*² en 1609 reportó otro caso, un monje carmelita, cuyas orinas eran negras

durante toda su vida, tenía perfecto estado de salud. *Singer* (1775) y *Marcet* (1822) reportaron casos de características similares en la orina.

El primer paciente a quien se le realizó el diagnóstico fue descrito por *Boedeker*³ en 1859, quien detectó una sustancia de carácter reductor con la solución de *Fehling*, no así con el reactivo de *Nylander* — $\text{Bi}(\text{OH})_3$ —, lo que la diferenciaba de los azúcares reductores. Posteriormente notó que al agregar álcali oscurecía rápidamente la orina, denominándola 2 años después *Alkapton*, proveniente de la raíz griega $\alpha\lambda\pi\tau\omega$.⁴

Durante los 30 años siguientes existieron grandes dudas en relación a la estructura química del *Alkapton*, hasta que *Wolkow* y *Baumann* en 1891 identificaron la sustancia como el 2-5 dihidroxifenilacético y la llamaron ácido homogentísico por la relación estructural con el ácido gentísico. Ellos demostraron que dietas ricas en proteínas y en tirosina específicamente, in-

* Residente de fisiopatología. Facultad de Ciencias Médicas, servicio de nutrición del hospital infantil docente "William Soler". Ave. San Francisco No. 10 112, Habana 8.

** Jefe del servicio de nutrición del hospital infantil docente "William Soler". Ave. San Francisco No. 10 112, Habana 8.

*** Técnico del laboratorio de nutrición del hospital infantil docente "William Soler". Ave. San Francisco No. 10 112, Habana 8.

FIG. 1

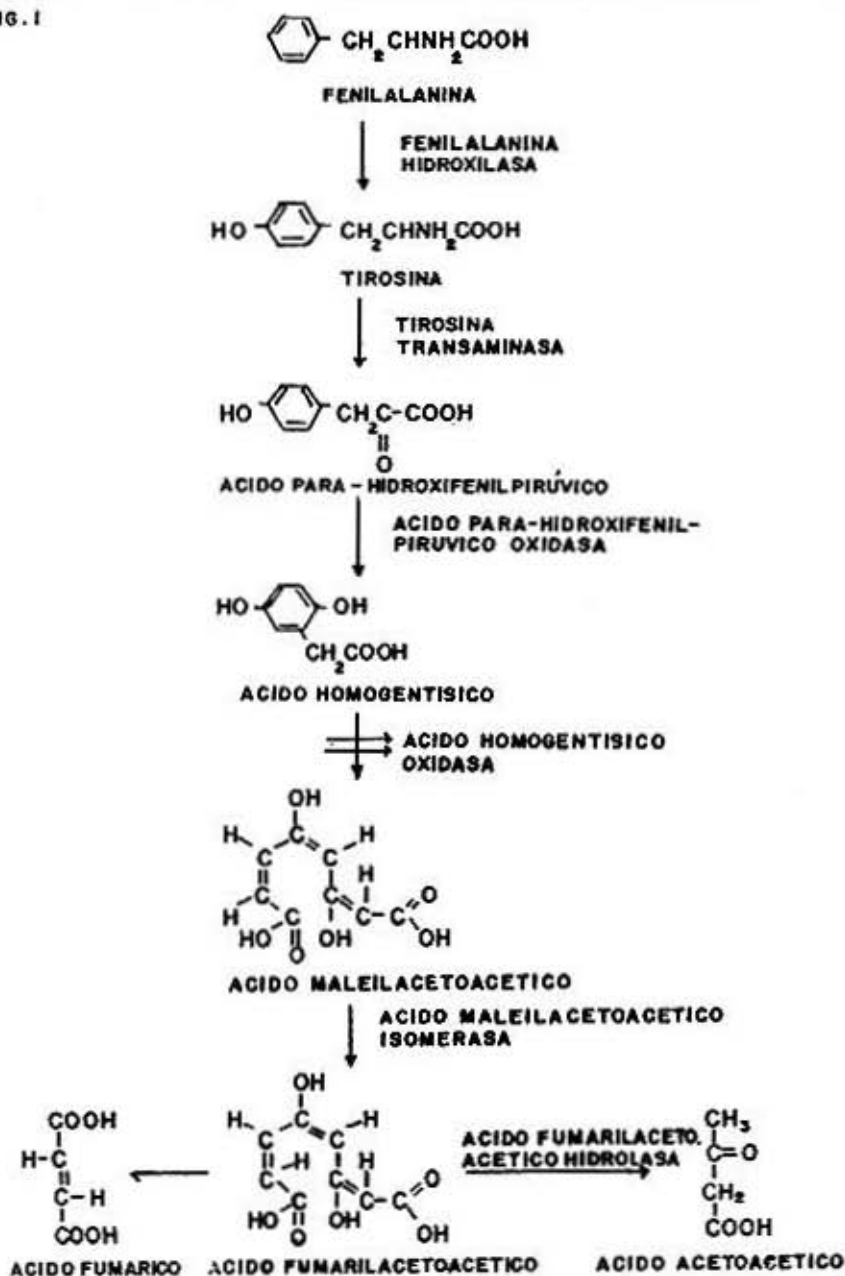


Fig. 1.—Esquema representando la vía glucocetogénica de la fenilalanina y tirosina. Con doble línea se señala el sitio de acción de la oxidasa del ácido homogentísico, cuya deficiencia produce el bloqueo de esta vía metabólica.

crementaban la excreción de homogentísico en los pacientes alcaptonúricos, pero atribuían la formación de este ácido a las bacterias intestinales.⁵

Virchow, en 1866, reportó, en un examen necrópsico de un paciente de 67 años que falleció por insuficiencia cardíaca relacionada con aterosclerosis severa y aneurisma aórtico, un pigmento de color amarillo en las articulaciones al que denominó *ocronosis* (ocre: amarillo; nosis: enfermedad). Su descripción fue tan acuciosa que sólo han sido añadidos pocos aspectos hasta la fecha.⁶

No fue hasta el año 1902 en que se correlacionó la alcaptonuria con la *ocronosis* por *Albrecht*,⁷ quien planteó que ésta era resultado de una alcaptonuria de larga evolución.

Oster, en 1904,⁸ fue el primero en diagnosticar la *ocronosis* en vida, en un paciente alcaptonúrico quien presentaba despigmentación de orejas, escleras y artritis, teniendo un hermano con características similares.

Como resultado de los estudios de alcaptonuria, *Sir Archibald Garrod* desarrolló el concepto de errores congénitos del metabolismo,⁹ suponiendo la ausencia de una enzima específica en esta entidad, lo que ha sido confirmado posteriormente en ensayos bioquímicos con preparaciones de hígado por *La Du et al.*¹⁰

En 1902, señaló que esta condición era congénita y familiar y que era más frecuente en matrimonios consanguíneos, sugirió que la transmisión genética era del orden mendeliano recesivo.

Hogben et al (1932) sumaron todos los casos reportados hasta la fecha y fue confirmado nuevamente el carácter recesivo y la frecuente relación de consanguinidad. Entre estas familias hubo algunos casos en los que se consideró una forma dominante de alcaptonuria.¹¹

*Milch*¹² planteó un gen dominante de penetrancia incompleta, aunque no hay

evidencias convincentes, hasta el momento, de este hecho.

*Kachadurians et al*¹³ reportaron un estudio en una familia libanesa de 5 pacientes alcaptonúricos con frecuente asociación de matrimonios consanguíneos.

Se ha investigado la detección de los heterocigotos mediante diferentes métodos, incluyendo pruebas de sobrecarga bioquímica,^{14,15} no obteniéndose resultados de ellas.

La presencia de orinas oscuras por una exposición prolongada o agregación de álcali es el hecho más destacado en la anamnesis, sobre todo "al lavar los pañales con jabón alcalino",¹¹ aunque hubo pacientes en que no se ha detectado este hecho,^{16,17} durante la niñez.

Entre las manifestaciones clínicas que han sido reportadas, está la artritis *ocronótica*;^{18,19,20,21,22} casi siempre se observa en la adultez como resultado de la lenta deposición de ácido homogentísico en huesos y cartílagos, observándose con frecuencia el compromiso de las grandes articulaciones (hombro, cadera, rodilla) con indemnidad de las pequeñas articulaciones.

Asimismo se puede encontrar calcificación de los cartílagos auriculares.

La evolución de estas lesiones puede conducir a la invalidez de los enfermos y a rotura de discos intervertebrales.²³

La pigmentación cutaneomucosa, señalada primeramente por *Albrecht* en 1902,^{7,24} es otro de los hallazgos clínicos de relativa frecuencia, localizándose fundamentalmente en regiones axilares, pubianas, pabellones auriculares y mucosa de la cavidad bucal.

En la esclera y córnea también se han reportado lesiones pigmentarias en varios casos (*Smith*).²⁵

López Sánchez realizó un estudio en una familia de alcaptonúricos donde aparecieron 4 miembros afectados por un síndrome litiasico, siendo uno de ellos grave.²⁷

La relación entre ocronosis y enfermedad cardiovascular aún no está bien esclarecida, pero existe una alta incidencia de éstas.

Beddard tabuló los hallazgos de autopsia de 11 casos de ocronosis encontrando en 8, enfermedad mitral crónica y 1 con valvulitis aórtica.¹¹ Otros investigadores han observado aterosclerosis generalizada y calcificación de las válvulas cardíacas. El infarto del miocardio es una causa frecuente de muerte en este grupo.²⁴

Han sido reportadas las asociaciones de Síndrome de Gilbert,²⁵ discoloración dentaria,²⁶ luxación del cristalino,²⁷ presencia de crisis convulsivas desde la primera infancia asociada a una disritmia cerebral paroxística²⁸ entre otras.

El número total de casos reportados hasta 1962 según O'Brien *et al.*¹ fue de 604 casos en 35 países diferentes.

En nuestro medio fue reportado el primer caso de ocronosis en el año 1916, por Castellanos;²⁹ y el segundo caso, por García López *et al.*²⁴

Reporte del caso -

Se trata de un niño, B.F.S., de 20 meses de edad, sexo masculino, de la raza blanca, procedente de La Habana, que ingresa por presentar orinas oscuras desde los 15 días de nacido, notando la madre que la orina manchaba los pañales poco tiempo después de la micción, y que al lavarlos con detergentes la coloración se hacía más intensa.

No se refiere ninguna otra sintomatología acompañante, exceptuando afecciones respiratorias altas y un ingreso en otro hospital por una supuesta infección urinaria.

Producto de un tercer embarazo (los 2 anteriores fueron abortos provocados) nació a término, de parto distócico, que precisó instrumentación, pesando 2830 gramos, requiriendo oxigenoterapia. El desarrollo psicomotor fue normal. Las inmunizaciones y alimentación fueron adecuadas.

En los antecedentes patológicos familiares no existe consanguinidad, ni referencias importantes. Padre vivo, sano, de 26 años de edad; madre viva, sana, de 24 años de edad.

Al examen físico se trataba de un secotante de aspecto normal, con piel y mucosas normocoloreadas y sin lesiones visibles. El pelo y las uñas eran de color y trufismo normal. Tampoco existían alteraciones osteoarticulares.

Desde el punto de vista nutricional era un paciente bien nutrido, con un peso de 13 kg (75 percentil), y una talla de 85 cm (75 percentil). Ambos, según tablas de Stuart y Stevenson.³²

Los perímetros cefálico, torácico, abdominal y braquial se encontraban en el 50 percentil para su edad cronológica, y el peso para su talla representaba el 108%.

El examen físico regional y por sistemas no mostró la existencia de patología alguna.

Los exámenes complementarios de rutina resultaron ser negativos, incluyendo cituria, conteo de Addis y urocultivos seriados.

El proteinograma por electroforesis estuvo dentro de límites normales. La edad ósea se correspondió con la cronológica.

El survey óseo mostró la presencia de fragmentación del núcleo epifisario femoral proximal izquierdo (Fig. 2).

Un urograma descendente y cistografía miccional fueron completamente negativos.

Hecho el diagnóstico presuntivo de alcaptonuria, mediante la anamnesis, se procedió a la identificación del ácido homogentísico en la orina del paciente.

Se tomó orina recién emitida por el niño observándose cómo en forma progresiva ésta iba adquiriendo un color pardusco, manteniendo su transparencia. Este cambio de coloración se produjo brusca e intensamente cuando se le añadió álcali.

Se comprobó la presencia de sustancia reductora en la orina mediante el reactivo de Benedict y la ausencia de glucosa por el método de la glucosa oxidasa.

Se realizó cromatografía descendente en papel Whatman No. 1, aplicando 10 y 5 microlitros respectivamente de orina del paciente y de un sujeto control; como solvente se utilizó una mezcla de *n*-butanol saturado en agua con 1 gota de ácido fórmico.

La corrida se realizó durante toda la noche procediéndose después a secar el papel y a su revelado con una mezcla de nitrato de plata amoniacal y lavado posterior con tiosulfato de sodio.³³



Fig. 2.—Estudio radiológico de la cadera izquierda, mostrando la fragmentación del núcleo epifisario del fémur de ese lado.

Inmediatamente después del revelado aparecieron sobre el papel las manchas cuyo Rf corresponde con el ácido homogentísico para ese sistema, de color pardo oscuro, que gradualmente iba desvaneciéndose al cabo de las horas (Fig. 3).

Durante su estancia en nuestro servicio, y con motivo de haber hecho un episodio febril, acompañado de vómitos, se le realizó una punción lumbar la cual resultó ser negativa. En el líquido cefalorraquídeo obtenido se realizó también un estudio cromatográfico no pudiendo demostrarse la presencia de ácido homogentísico.

Estudio familiar

Teniendo en cuenta el carácter hereditario de esta afección se procedió a realizar un análisis de los ascendientes, tanto por vía paterna como por vía materna.



Fig. 3.—Cromatografía en papel, de la orina del paciente y un sujeto control; en ambos casos se hicieron aplicaciones de 5 y 10 microlitos de orina; obsérvense las dos manchas correspondientes al ácido homogentísico en el paciente y su ausencia en el control.

El árbol genealógico familiar aparece en la figura 4.

Con el fin de detectar los heterocigotos se procedió a realizar un test de sobrecarga de fenilalanina a ambos padres, teniéndose en cuenta que necesariamente son heterocigotos para la enfermedad. Para ello se procedió a administrar a cada uno, en ayunas, 11 gramos de fenilalanina pura, mezclada con agua azucarada. Esta dosis representa 5 veces la recomendada para la ingestión diaria.²⁴

Se recogió la totalidad de la orina emitida en las 24 horas que siguieron a la

FIGURA 4. ALCAPTONURIA
ARBOL GENEALÓGICO DE LOS MIEMBROS DE LA FAMILIA PESQUISADA

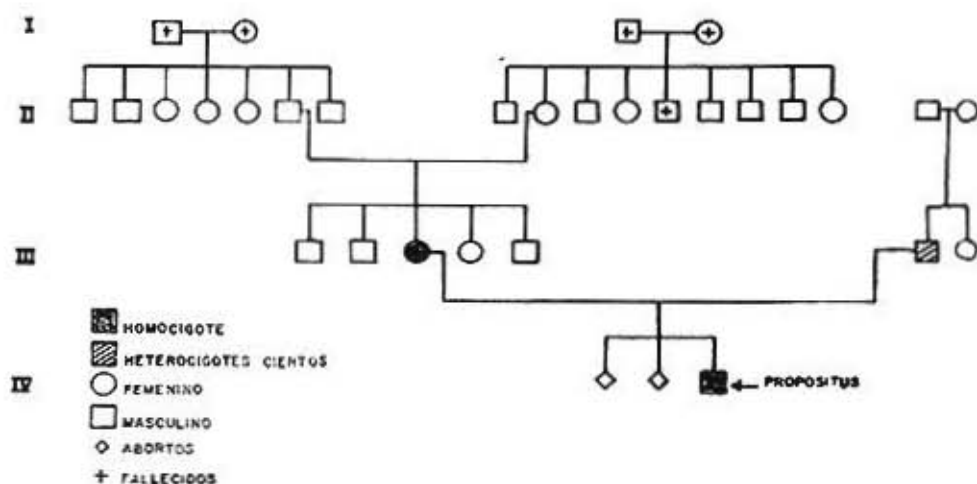


Fig. 4.—Árbol genealógico de los miembros pesquisados de la familia del paciente estudiado.

ingestión del aminoácido, separándose en 6 periodos de 4 horas. En cada una de las muestras se le realizó el cromatograma, no detectándose la presencia de ácido homogentísico en ninguno de los 2 progenitores.

También se hizo el estudio cromatográfico en el sudor del padre, siendo el resultado negativo.

En el resto de los antecesores del paciente se realizó un interrogatorio exhaustivo en busca de síntomas y signos sugestivos de la enfermedad, no encontrándose ninguno.

DISCUSION

El diagnóstico del paciente alcaptonúrico puede hacerse con relativa facilidad, teniendo en cuenta las manifestaciones clínicas, con el apoyo de los métodos bioquímicos de detección de la actividad de la homogentisicoxidasas en hí-

gado y riñón¹⁰ o la presencia de ácido homogentísico en la orina.³³

La identificación de los heterocigotos, por el contrario, solamente puede hacerse, hasta el presente, en los progenitores de un paciente con alcaptonuria confirmada, teniendo en cuenta el carácter recesivo autosómico de esta afección.

Las pruebas de sobrecarga de sustancias precursoras que han sido empleadas en otras enfermedades metabólicas no han tenido utilidad en el caso de la alcaptonuria, debido, a que en el heterocigoto la cantidad de enzima homogentisicoxidasas presente en riñón e hígado es suficiente para metabolizar cantidades varias veces superiores de fenilalanina y tirosina a las que ingiere normalmente un individuo.

En esta familia que reportamos se sometió a los padres del paciente (heterocigotos ciertos) a una sobrecarga de fe-

nilalanina igual a 5 veces la óptima ingestión diaria, sin resultados; lo cual nos llevó a no intentar realizarla a otros miembros de la familia de heterocigotía dudosa.

Roth et al²⁵ en el año 1968, emplearon una prueba de sobrecarga de L-tirosina (0,1 g X kg de peso corporal) en heterocigotos ciertos, sin poder demostrar la eliminación de ácido homogentísico en la orina de ninguno de ellos.

Por otra parte, en la familia estudiada por nosotros no existía antecedentes de consanguinidad ni tampoco las manifestaciones clínicas que permitieran la identificación de otros enfermos.

En nuestro paciente la única manifestación detectable fue la excreción urinaria del ácido homogentísico, su corta edad explica la ausencia de ocronosis u otras manifestaciones características.

El hallazgo radiológico de una segmentación del núcleo epifisario del fémur es un hecho no reportado previamente en la literatura revisada, por lo que requiere un análisis ulterior.

El primer caso reportado en nuestro país, un niño de 11 años,²⁵ presentaba, a diferencia del nuestro, una ocronosis sin alcaptonuria y la referencia de que la madre y un hermano tenían lesiones pigmentarias en la cara y pabellones auriculares; sin embargo, en este caso no existe alusión a la presencia de orinas oscuras, y mucho menos a la demostración de ácido homogentísico en las mismas, y es sabido que la ocronosis puede verse en otras patologías, por lo que el diagnóstico de alcaptonuria no debe hacerse en ausencia de la eliminación urinaria del ácido homogentísico.

La ausencia de ácido homogentísico en el líquido cefalorraquídeo puede explicarse por la gran efectividad de la depuración urinaria para este ácido^{26,27} que no permite su acumulación en el plasma.

La no presencia de ácido homogentísico en el sudor del padre era de esperarse, teniéndose en cuenta su ausencia en la orina, inclusive después de la prueba de sobrecarga.

SUMMARY

Peña, M. et al. *Screening for heterozygosis in the family of an alcaptonuric child.* Rev Cub Ped 46: 6, 1974.

A case of alcaptonuria is reported in a 20-month old child and the presence of homogentisic acid is demonstrated through paper chromatography in the patient's urine. A study of the family is carried out, and tests for phenylalanine overload are made to the parents (true heterozygotes) in order to establish a method for the diagnosis of other heterozygotes, the results being unsatisfactory, as it is confirmed by other authors' reports.

RESUME

Peña, M. et al. *Recherche d'hétérozigote dans la famille d'un enfant alcaptonurique.* Rev Cub Ped 46: 6, 1974.

On rapporte un cas d'alcaptonurie chez un enfant âgé de 20 mois, et on démontre par chromatographie en papier, la présence d'acide homogentisique dans l'urine du patient. On fait une étude de la famille et épreuves de surcharge de phénylalanine aux parents (hétérozigotes vrais) dans le but d'établir une méthode pour diagnostiquer autres hétérozigotes. Les résultats ne furent pas satisfaisants, ce qui a déjà été démontré par d'autres auteurs.

РЕЗЮМЕ

Пеня М., и др. Исследование гетерозиготности в семье ребенка с алкаптонурией. *Rev Cub Ped* 46: 6, 1974.

Приводится сообщение о ребенке в возрасте 20 месяцев, страдающем алкаптонурией. Доказывается посредством хроматографии на бумаге наличие гликозурной кислоты в моче больного. Проводится обследование семьи и делаются тесты перегрузки фенилаланина родителям (истинные гетерозиготы) в целях определения метода для постановки диагноза других гетерозигот. Полученные результаты неудовлетворительны, также как согласно сообщениям других авторов.

BIBLIOGRAFIA

1. *Scribonius, G. A.* De inspectione Urinarum, Lemgo, Germany 1584. (Tomado de O'Brien y La Du, ref. 33).
2. *Schenck, J.* Urine nigra in sanis quibusdam. In: *Observationes Medicas*, Lib. III, pág. 558. Frankfurt, 1609 (tomado de ref. 33).
3. *Boedeker, C.* Ueber das Alcapton, ein neuer Beitrag Zur Frage: Welche Stoffe des Harns Können Kupferreduction bewirken? *Ztschr Rat Med* 7: 130, 1859 (tomado de ref. 11).
4. *Boedeker, C.* Das Alkapton ein Beitrag Zur Frage: Welche Stoffe des Harns aus einer duciren? *Ann Chem Pharm* 117: 98, 1861 (tomado de ref. 11).
5. *Wolkow, M. and E. Baumann.* Ueber das Wesen der Alkaptonurie *Ztschr. Physiol Chem* 15: 228, 1891 (tomado de ref. 11).
6. *Virchow, R.* Ein fall von allgemeneiner ochronose der knorpel und knorpelähnlichen theile. *Arch Path Anat* 37: 212, 1866 (tomado de O'Brien y Bert N. Duenef, ref. 33).
7. *Albrecht, H.* Ueber ochronose. *Ztschr Heilk* 23: 366, 1902.
8. *Oster, W.* Ochronosis: The pigmentation of cartilages, sclerotics, and skin in Alcaptonuria. *Lancet* 1: 10, 1904.
9. *Garrod, A. E.* The Croonian Lectures on inborn errors of metabolism. Lectures II. Alcaptonuria. *Lancet* 1: 10, 1908.
10. *La Du, B. N., et al.* The nature of the defect in tyrosine metabolism in Alcaptonuria. *J Biol Chem* 23: 251, 1958.
11. *La Du, B. N.* Alcaptonuria. In: *The metabolic basis of inherited disease*. By J. B. Stanbury et al. 2. ed. p. 394, McGraw Hill Book, New York, 1966.
12. *Milch, R. A.* Inheritance of Alcaptonuria. *Bull Hosp Joint Dis* 18: 103, 1957.
13. *Khachadurian, A., K. Abu Feisal.* Alcaptonuria: report of a family with seven cases appearing in four successive generations with metabolic studies in one opatient. *J Chron Dis* 7: 455, 1958.
14. *Roth, M., W. R. Felgen Haver.* Recherche de L'excretion d'acide homogentisique urinaire chez des Heterozygotes pour L'Alcaptonurie enzym. *Biol Clin* 9: 5358, 1968.
15. *Beiger et al.* Alcaptonuria: *Press Med* 76: 1182-3, 1968.
16. *Yates, J. H.* Ochronosis arthritis: report of a case. *Bull New Eng Med Center* 16: 168, 1954.
17. *Cooper, P. A.* Alcaptonuria with ochronosis. *Prac Roy Soc Med* 44: 917, 1951.
18. *Molony, J. et al.* Alcaptonuria, Ochronosis and Ochrotonic Arthritis. *J Inst Med Ass* 63: 22-4, 1970.
19. *Kure, D., et al.* Study of 2 cases of Alcaptonuria rheumatism. *Rev Rheum* 33: 345-26, 1966.
20. *Rosenberg, E. F., et al.* Alcaptonuria y osteoarthritis. Una reproducción experimental de osteoarthritis primaria humana. *Pres Med Argentina*, 53: 937-43, 1966.
21. *Vishimon, I., et al.* An autopsy case of Alcaptonuria with ochronosis. *Acta Path* 20: 505-12, nov-1970.
22. *Roe, S. B., et al.* Alcaptonuria, with ochrotonic spondylim. *J Indian Med* 54: 25-611, 1970.
23. *Eisenberg, H.* Alcaptonuria, ochronosis, arthritis and ruptured intervertebral disc. *Arch Int Med* 86: 79, jul-50.
24. *Valdés Skliar, R. H. Goze.* Alcaptonuria, a propósito de un caso en crisis convulsiva. *Rev Clin Esp* 119: 73-6, 1970.
25. *Castellanos, A., A. Garcia López.* Primer caso de Ochronosis reportado en nuestro medio. *Arch Med Inf* 15: 24-33, 1946.
26. *Smith, J.* Ochrotonic of the sclera y cornea complicating Alcaptonuria. *JAMA* 129: 1282, 1942.
27. *López Sánchez et al.* Alcaptonuria y síndrome litiasico grave. Estudio familiar. *Rev Clin Esp* 123: 369, 1971.
28. *Brown Norman, K., E. Snuckler.* Alcaptonuria in Gilbert's syndrome. *Amer J Med* 48: 795, 1970.

- 29.—*Silkett, R. G. et al.* Discoloration of the teeth in Alcaptonuria and Parkinsonism. *Oral Surg* 29: 197-9, 1970.
- 30.—*Sampaolesi, R. et al.* Alcaptonuria y ocrónosis endógena con luxación del cristalino y glaucoma secundario. *Arch Oft Buenos Aires* 42: 165, 1967.
- 31.—*O'Brien, W. M. et al.* Biochemical, pathologic and clinical aspects of alcaptonuria, ochronosis and ochronotic arthropathy. *Ann Int Med* 34: 813, 1963.
- 32.—*Nelson, W. E.* Textbook of Pediatrics 9. ed. p. 40. W. B. Saunders, London, 1969.
- 33.—*Yi Yung, H., T. Inouye.* Inborn errors of metabolism. Laboratory Methods. Years Book Medical, Chicago, 1966.
- 34.—*Burton, B. T.* Nutrición Humana, p. 80. Organización Panamericana de la Salud, Washington, 1966.
- 35.—*Neuberger, A. et al.* Studies on Alcaptonuria. II. Investigation of a case of human alcaptonuria. *Bioch J* 41: 438, 1947.
- 36.—*Seegmiller, J. E. et al.* An enzymatic spectrophotometric method for the determination of homogentisic acid in plasma and urine. *J Biol Chem* 236: 774, 1961.

Recibido el trabajo: mayo 21, 1974.