

**Artículo original****Alcaptonuria. Informe de dos casos**

*Dra. Marcela Vela-Amieva,\* M en C Isabel Ibarra-González,\* Dra. Maricela Hernández-Serrano,\*\* Dr. Jaime Bonilla-Delgado,\*\* QFB Martha E. Pérez-Andrade,\* Dr. Antonio Velázquez-Arellano\**

**Resumen**

La alcaptonuria es un error innato infrecuente del metabolismo de transmisión autosómica recesiva, debido a la deficiencia de la enzima oxidasa del ácido homogentísico. Se describen los casos de dos niños, de 2 años 9 meses y de 45 días de edad cuya única sintomatología fue el oscurecimiento de la orina al entrar en contacto con el aire. Las pruebas químicas cualitativas que forman parte del llamado "tamiz metabólico" fueron positivas en ambos pacientes y el diagnóstico se confirmó mediante la identificación y cuantificación del ácido homogentísico por medio de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CGEM). Las pruebas metabólicas de tamiz para detectar esta enfermedad son sencillas y accesibles. La confirmación del diagnóstico requiere la intervención de laboratorios especializados en bioquímica genética que cuenten con la metodología adecuada.

**Palabras clave:** Alcaptonuria, ácido homogentísico, errores innatos del metabolismo, tamiz metabólico, cromatografía de gases, espectrometría de masas.

**Introducción**

La alcaptonuria (McKusick 203500) es una enfermedad metabólica hereditaria rara, que se transmite en forma autosómica recesiva, caracterizada por deficiencia de la enzima oxidasa del ácido homogentísico (AHG).<sup>1</sup> Esta enfermedad tiene la distinción histórica de haber sido el primer error innato del metabolismo.<sup>2</sup> Se desconoce la frecuencia de la alcaptonuria en la población general; se sabe que se han descrito más de 600 casos en el mundo.<sup>3,4</sup> Es particularmente frecuente en las repúblicas Checa, Eslovaquia y Dominicana.<sup>5,6</sup> Su frecuencia se estima en 4 por cada 1,000,000 de recién nacidos vivos.<sup>7</sup> Debido al defecto enzimático, el AHG producido durante el metabolismo de la

**Abstract**

Alcaptonuria is a rare inborn error of metabolism, inherited as an autosomal recessive disease. It is the result of a constitutional lack of the enzyme homogentisic acid oxidase. We describe two patients, a 2 year 9 months old boy and a 45 days old girl, with darkening of urine as the only symptom. Chemical tests were positive in both patients, and the diagnosis was confirmed by the identification of homogentisic acid by gas chromatography-mass spectrometry. We emphasize the fact that the initial chemical tests are easy and accessible to any laboratory. The final diagnosis requires confirmation in specialized laboratories.

**Key words:** Alcaptonuria, homogentisic acid, inborn errors of metabolism, metabolic screening, gas chromatography.

fenilalanina y la tirosina no puede ser metabolizado; se acumula en el organismo y se excreta en la orina de manera persistente (figura 1). Típicamente la orina del paciente alcaptonúrico se oscurece cuando se expone a la atmósfera y adquiere una coloración pardo-negruzca, especialmente si el pH es alcalino, ya que en tales condiciones se acelera la oxidación y polimerización del AHG.<sup>4</sup> Esto explica también el intenso color negro que adquieren los pañales de los niños alcaptonúricos al ser lavados con jabones alcalinos.<sup>7</sup> Esta característica se detecta habitualmente en la etapa de lactante, pero en ocasiones las orinas oscuras no se ven sino hasta la segunda o tercera décadas de la vida.<sup>8</sup>

La cantidad de AHG excretada en la orina de pacientes alcaptonúricos es directamente proporcional a la ingestión de tirosina y fenilalanina de la dieta. En condiciones normales el AHG es degradado por la oxidasa del AHG a ácido maleilacetoacético.<sup>9</sup> En los pacientes con alcaptonuria no hay actividad apreciable de la oxidasa del AHG en el tejido hepático; en consecuencia, los niveles plasmáticos del AHG se elevan casi a 3 mg/dL y la excreción urinaria varía de 4 a 8 g al día.<sup>10</sup>

\* Unidad de Genética de la Nutrición Instituto Nacional de Pediatría-Instituto de Investigaciones Biomédicas UNAM.

\*\* Servicios de Genética y Nefrología, Unigen Morelia, Michoacán.

Correspondencia: Dra. Marcela Vela Amieva. Unidad de Genética de la Nutrición INP-UNAM. Av. de la Imán No.1, 4° piso. Col. Insurgentes-Cuicuilco. CP 04530.

Recibido: septiembre, 2002. Aceptado: noviembre, 2002.

La versión completa de este artículo también está disponible en internet: [www.revistasmedicasmexicanas.com.mx](http://www.revistasmedicasmexicanas.com.mx)

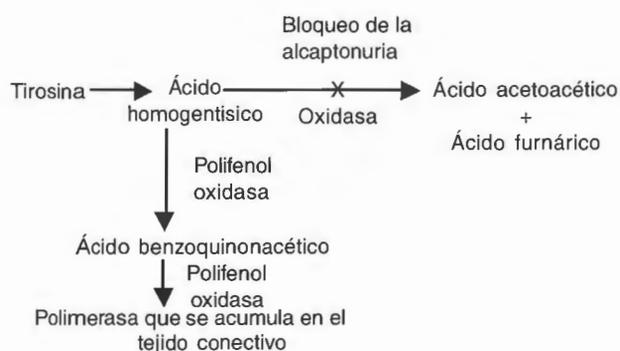


Figura 1. Vía metabólica del ácido homogentísico mostrando su principal precursor, la tirosina.

El AHG puede polimerizarse mediante la polifenoloxidasas para formar el ácido benzoquinonacético, el cual tiende a acumularse en el tejido conectivo, lo que con los años produce una enfermedad degenerativa de las articulaciones llamada artritis ocrónica. Su depósito en otros tejidos mesenquimatosos ocasiona una coloración negruzca en las mejillas, nariz, orejas y escleróticas, lo que constituye la llamada ocrónosis alcaptonúrica<sup>11,12</sup>. También es frecuente la pigmentación oscura del cerumen.<sup>13</sup> A veces es posible observar a través de la piel cambios de color en los tendones de las manos. La artritis puede limitar en grado variable el movimiento de las articulaciones de la cadera, de los hombros o rodillas, o producir anquilosis de la región lumbosacra. Los pacientes alcaptonúricos pueden tener además una alta frecuencia de enfermedades cardiovasculares debido al depósito de pigmento en la íntima de arterias de calibre mediano y grande, en el endocardio y en las válvulas cardiacas<sup>14,15</sup>.

Las radiografías frecuentemente revelan zonas de calcificación laminar en los discos intervertebrales lumbares, con disminución ulterior del espacio articular y formación de osteofitos en los cuerpos vertebrales. Las articulaciones periféricas muestran afección más tardía<sup>16</sup>.

El AHG reduce el reactivo de Benedict, y da un precipitado de coloración amarillo-anaranjado-café. La orina de pacientes con alcaptonuria forma un pigmento marrón o negro cuando se añade una base fuerte como el hidróxido de sodio. Al agregar cloruro férrico al 10%, la orina adquiere un color azul o verde transitorio. Con la adición de 5 mL de solución de nitrato de plata al 3% a 0.5 mL de orina, se obtiene una mezcla oscura en presencia de ácido homogentísico<sup>17,18</sup>.

Estas pruebas son poco específicas. Para confirmar la identidad del compuesto se puede realizar cromatografía en capa fina o cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CGEM).<sup>19,20</sup>

No existe tratamiento específico de la enfermedad y las medidas terapéuticas, cuya utilidad es limitada, son la restricción dietética de tirosina y fenilalanina, la administración de grandes dosis de ácido ascórbico en un intento por evitar la oxidación del ácido homogentísico en ácido benzoquinonacético y el alivio sintomático de la artritis con antiinflamatorios no esteroideos<sup>21-23</sup>.

Estudios recientes señalan que el gen relacionado con la alcaptonuria se encuentra en el brazo largo del cromosoma 3<sup>24,25</sup>.

Cuadro 1. Pruebas de tamiz metabólico para detectar AHG en la orina

Prueba	Resultado
1. Aspecto (color de la orina)	Oscurecimiento de la muestra al contacto con el aire
2. Efecto del NaOH al 10% (peso/volumen)	Oscurecimiento acelerado de la orina, que se inicia en la superficie
3. Cloruro férrico	Coloración azul fugaz al caer la gota de reactivo
4. Nitrato de Plata (AgNO <sub>3</sub> )	Aparición instantánea de color negro
5. Reactivo de Benedict	Coloración negra con formación de un precipitado amarillo

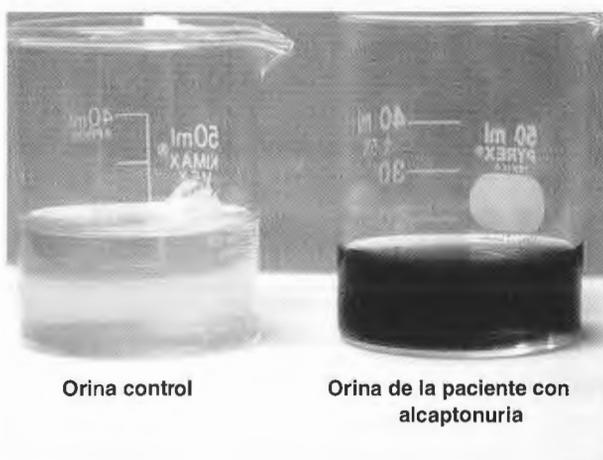


Figura 2. Se observa la orina de color oscuro característica de la alcaptonuria, después de añadir NaOH.

## Descripción de los casos clínicos

### Caso 1

Niña de 45 días de edad, producto de la primera gesta de padres no consanguíneos, con embarazo normal a término, atendido en medio hospitalario sin complicaciones perinatales. Como antecedente familiar de importancia, el padre tiene riñones supernumerarios. Examen físico: Aspecto general sin evidencia de patología. Fue enviada a la Unidad de Genética de la Nutrición del INP-UNAM debido a que la madre observó que los pañales de la niña adquirían un tinte violáceo poco después de la micción. El examen general de orina fue normal; orina de color claro y pH de 7.0. Inicialmente se realizó un tamiz metabólico con pruebas cualitativas para detectar ácido homogentísico en la orina, que se muestran en el cuadro 1. Todas las pruebas fueron positivas; la orina se oscureció al entrar en contacto con el ambiente; la adición de NaOH aceleró el oscurecimiento, (figura 2); se observó coloración azul fugaz con el cloruro férrico y negra con el nitrato de plata. Al agregar reactivo de Benedict se obtuvo coloración pardo-negrucza. El diagnóstico se confirmó mediante CGEM en orina, con la metodología indicada en el cuadro 2. El cromatograma mostró un gran pico anormal, con tiempo de retención de 21.613 minutos, que corresponde al AHG (figura 3b). La concentración de AHG en orina fue de 949 mmol/mol de creatinina (figura 3c).

### Caso 2

Niño de dos años nueve meses, producto de la primera gesta de padres no consanguíneos; embarazo normal a término, atendido en medio hospitalario sin complicaciones perinatales. Una hermana de 1 año 10 meses con la misma afección. La exploración física no mostró evidencia de patología. El peso y la talla fueron adecuados para la edad. Desde el nacimiento los padres notaron oscurecimiento de la orina del paciente. Examen general de orina dentro de límites normales; orina intensamente amarilla y pH de 6.5. El tamiz metabólico inicial fue positivo y el diagnóstico se confirmó por medio de CGEM (figura 3d). En este paciente la concentración de AHG en orina fue de 2678 mmol/mol creatinina.

### Discusión

Estos casos son similares a otros descritos en China<sup>26</sup> y Brasil<sup>27</sup>, cuya única manifestación clínica es el oscurecimiento de la orina cuando entra en contacto con el aire. Las muestras de orina de los pacientes del presente estudio fueron de color amarillo claro al momento de ser obtenidas y

**Cuadro 2.** Descripción de la metodología de la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas para la identificación y cuantificación de AHG<sup>(20)</sup>

**Extracción:** 300  $\mu$ L de orina fueron acidificados con 275  $\mu$ L de HCl 4N, la muestra es saturada con NaCl y extraída 2 veces con 2 mL de acetato de etilo cada vez. Se evapora el acetato de etilo con vacío.

**Formación de derivados de la muestra:** Derivados volátiles del extracto de ácidos orgánicos son preparados por adición de 100 ml de BSTFA (N,O-bis(trimetilil) trifluoroacetamida), calentando a 60°C por 30 minutos.

**Condiciones del análisis cromatográfico:** Cromatógrafo de gases Hewlett Packard 5890 con detector selectivo de masas 5971-A. Columna de metilfenil silicón de 25 M, 25  $\mu$  de espesor de película, 0.25 mm de diámetro. Temperatura del inyector: 250°C, temperatura de la línea de transferencia: 280°C, temperatura de la fuente: 150°C. Programa de temperatura de la columna: Inicial de 40°C, velocidad de calentamiento: 10°C por minuto, temperatura final: 280°C. Tiempo inicial y final: 5 y 2 minutos respectivamente. Tiempo de encendido del detector selectivo de masas: 10 minutos. Inyección instantánea (tiempo de encendido de la purga: 2 minutos).

**Obtención del espectro:** El espectro fue obtenido con una estación de trabajo HP-UX.

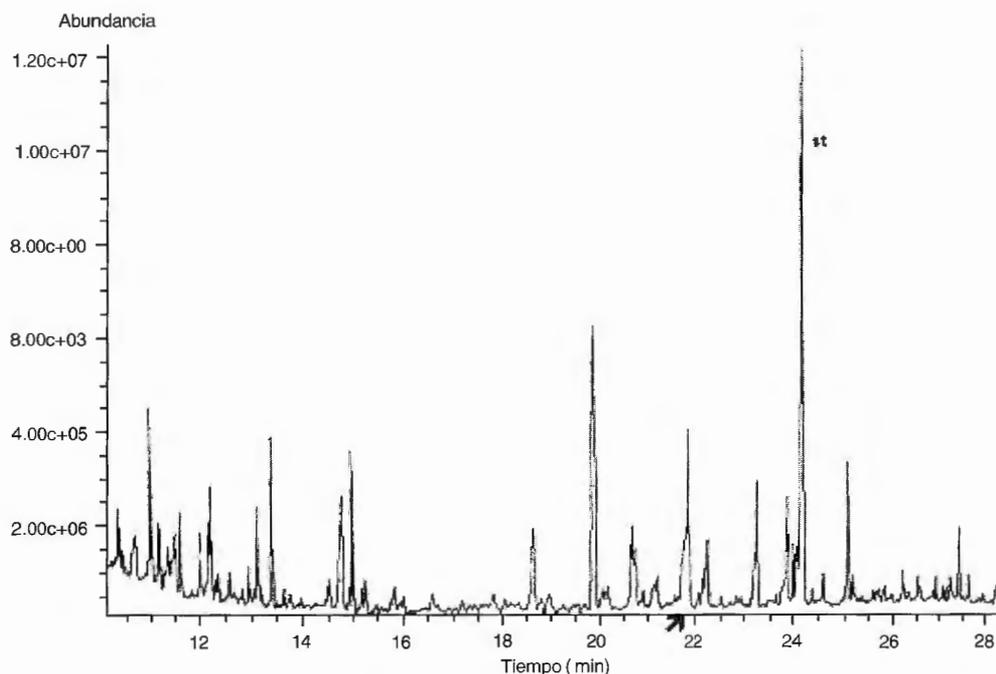
**Cuantificación:** Se realizó obteniendo el factor de respuesta con el monitoreo del ión m/z 384. La cantidad obtenida se expresa en mmol/mol de creatinina.

permanecieron de ese color aún después de congeladas. Se oscurecieron gradualmente al contacto con el medio ambiente. Todas las pruebas químicas del tamiz metabólico que detectan AHG, aunque poco específicas, fueron francamente positivas. Los dos pacientes mostraron un perfil de ácidos orgánicos urinarios característico de la alcaptonuria, como muestran las figuras 3c y 3d. En las orinas normales, generalmente no se detecta el AHG o existe en muy poca cantidad (figura 3a). Llama la atención la enorme cantidad de AHG que excretan estos pacientes; es mayor la excreción del paciente de dos años nueve meses que el de 45 días. Esto puede ser función no sólo de la edad, sino también del tipo de dieta de cada paciente. Dada la sencillez y accesibilidad de las pruebas de tamiz metabólico, pueden y deben realizarse en todos los pacientes en quienes se refiera el dato del oscurecimiento urinario. Destacamos que en estos pacientes el examen general de orina fue normal, lo que no tiene valor diagnóstico para la alcaptonuria.

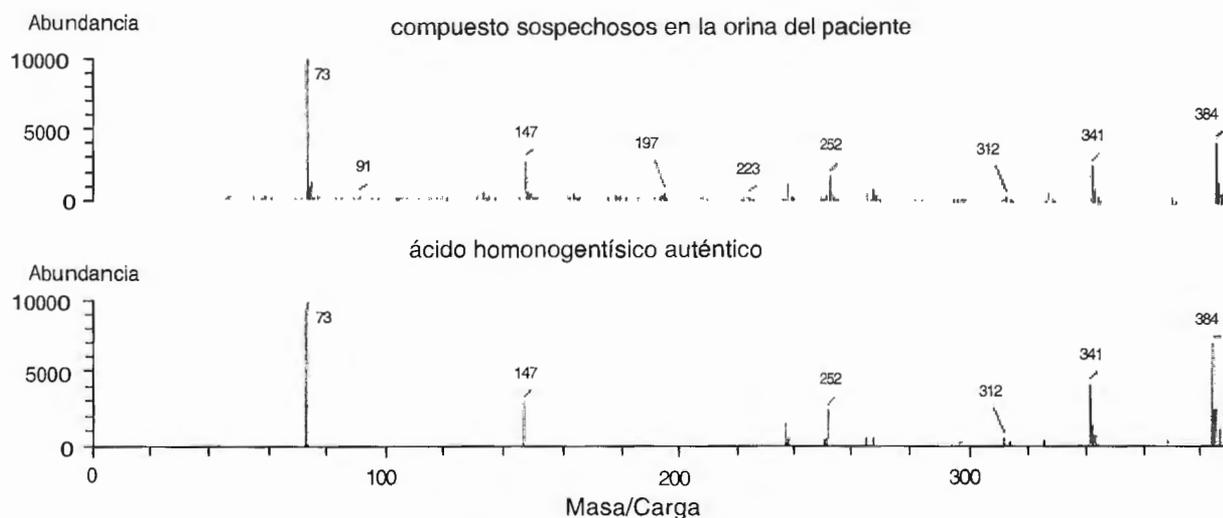
Hay otros padecimientos que pueden cursar con orina café oscuro o pardo-negruczo, que dejan manchas de distintas tonalidades en los pañales; entre ellos se encuentran la melanuria causada por sarcomas melanocíticos disemina-

dos, la hemoglobinuria y algunos tipos de porfirias, cuyo cuadro clínico es muy característico y distinto al de la alcaptonuria.

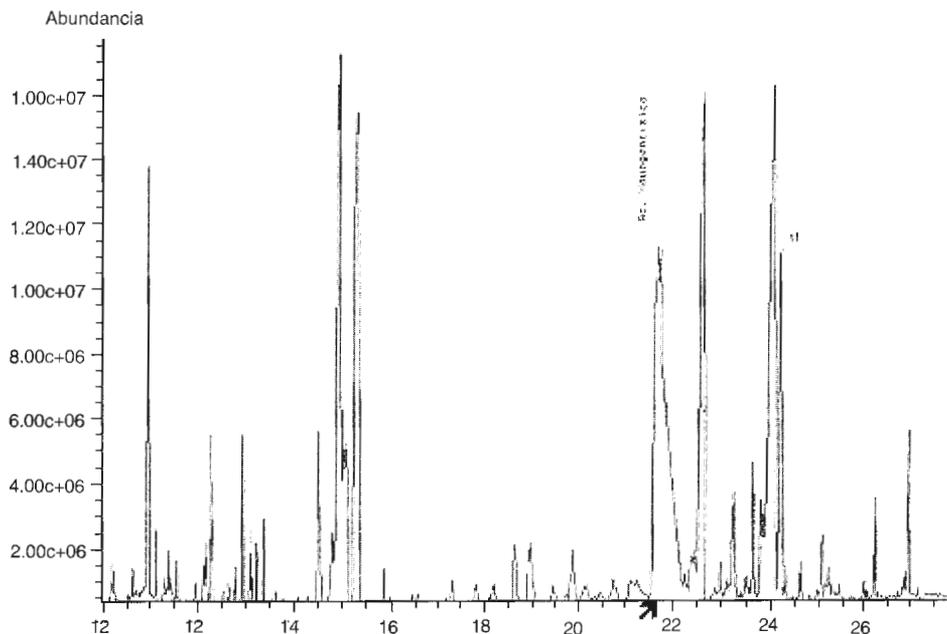
Existen diversas sustancias y situaciones clínicas que pueden alterar el color de la orina en los niños, y es importante que el pediatra conozca las causas que dan origen a



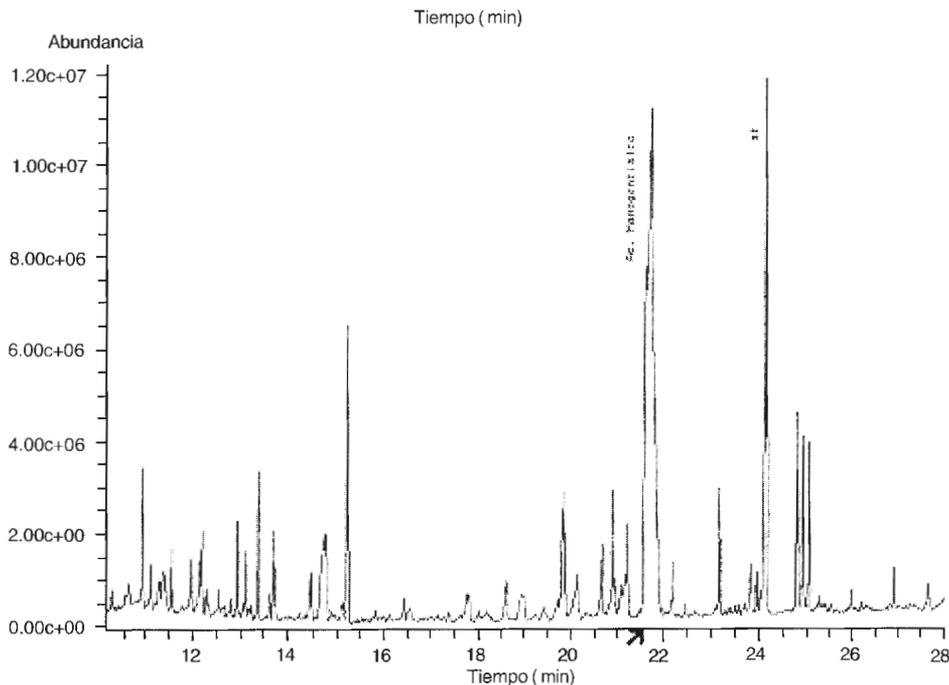
**Figura 3. a)** Perfil normal de ácidos orgánicos urinarios (cromatograma) obtenido por CGEM de una orina control. Las iniciales «st» significan estándar interno.



**Figura 3. b)** Comparación de los espectros de masas. En la parte superior se observa el espectro del compuesto encontrado en la orina de los pacientes (con tiempo de retención de 21.613 min) y en la parte inferior se muestra el patrón correspondiente al ácido homogentísico, según la biblioteca del sistema de cómputo HP-UX del cromatógrafo de gases.



**Figura 3. c)** Cromatograma del caso 1. La flecha señala la presencia de un pico anormal que aparece a los 21.613 minutos y que corresponde al ácido homogentísico.



**Figura 3. d)** Cromatograma del caso 2. La flecha muestra el ácido homogentísico.

dicho cambio de coloración para hacer un diagnóstico correcto. La orina azul puede sugerir enfermedad de Hartnup;

la orina roja oscura puede ocurrir en la porfiria o en la hematuria<sup>28</sup>.

Los pacientes de este estudio no presentaron otras de las afecciones características de la alcaptonuria descritas en la literatura médica, probablemente debido a su corta edad; dichas alteraciones suelen presentarse hasta la tercera o cuarta décadas de la vida.

Está indicada la terapia permanente con suplemento de ácido ascórbico y dieta baja en tirosina y fenilalanina en pacientes con alcaptonuria, especialmente en niños, ya que con ello se retrasa la aparición de los síntomas de artritis ocrónica y de afección cardíaca y ocular<sup>23</sup>.

Existen varias formas de confirmar la sospecha diagnóstica de alcaptonuria. Es particularmente valiosa la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas, por su elevada sensibilidad y especificidad, y por su sencillez, puesto que sólo requiere una muestra de orina.

No existe tratamiento específico de la enfermedad y las medidas terapéuticas, cuya utilidad es limitada son la restricción de tirosina y fenilalanina, esto es, disminuir los alimentos ricos en proteínas como la carne de todo tipo, pescado, huevo, leche y sus derivados, cereales y leguminosas, así como la administración de grandes dosis de ácido ascórbico en un intento por evitar la oxidación del ácido homogentísico en ácido benzoquinonacético y el alivio sintomático de la artritis con antiinflamatorios no esteroideos<sup>21-23</sup>.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- McKusick VA. Mendelian inheritance in man. 6th ed. Baltimore: The Johns Hopkins University Press, 1990.
- Garrod AE. The incidence of alcaptonuria: a study in chemical individuality. *Lancet* 1902;1616-20.
- Knox AE. Sir Archibald Garrod's "Inborn errors of metabolism". *Alcaptonuria*. *Am J Hum Genet* 1958;10:95-124.
- O'Brien WM, La Du BN, Bunim JJ. Biochemical, pathologic and clinical aspects of alcaptonuria, ochronosis and ochronotic arthropathy: review of world literature (1584-1962). *Am J Med* 1963;34:813-38.
- Goicoechea De Jorge F, Lorda I, Gallardo ME, Pérez B et al. Alcaptonuria in the Dominican Republic: identification of the founder AKU mutation and further evidence of mutation hot spots in the HGO gene. *J Med Genet*. 2002;39(7):E40.
- Zatkova A, de Bernabe DB, Polakova H, Zvarik M, et al. High frequency of alcaptonuria in Slovakia: evidence for the appearance of multiple mutations in HGO involving different mutational hot spots. *Am J Hum Genet*, 2000;67:1333-9.
- Carlesimo M, Bonaccorsi P, Tamburrano G, Carboni I, et al. Alcaptonuria. *Dermatology* 1999;199:70-1
- Fernández-Canon JM, Granadino B, Beltrán-Valero de Bernabé D, et al. The molecular basis of alcaptonuria. *Nat Genet*. 1996;14:19-24.
- Knox WE, May-Knox ML. The oxidation in liver of L-Tyrosine to acetoacetate through p-hydroxyphenylpyruvate and homogentisic acid. *Biochem J* 1951;49:686-93.
- Scriver CR. Alcaptonuria. *Nat Genet* 1996;14:5-6.
- Lubies A, Schneider I, Sebok B, Havass Z. Extensive bluish gray skin pigmentation and severe arthropathy. Endogenous ochronosis (alcaptonuria). *Arch Dermatol*. 2000;136(4):548-9.
- Felbor U, Mutsch Y, Grehn F, Muller CR, Kress W. Ocular ochronosis in alcaptonuria patients carrying mutations in the homogentisate 1, 2-dioxygenase gene. *Br J Ophthalmol*. 1999;83(6):680-3.
- Alcalá O, Alarcón-Corredor OM, Sánchez de Molina D. Alcaptonuria. presentación de un caso en un niño de dos años. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1986;43:61-5.
- Vavuranakis M, Triantafyllidi H, Stefanadis C, Toutouzas P. Aortic stenosis and coronary artery disease caused by alcaptonuria, a rare genetic metabolic syndrome. *Cardiology*. 1998;90(4):302-4.
- Hangaishi M, Taguchi J, Ikari Y, Ohno M, et al. Aortic valve stenosis in alcaptonuria. *Images in cardiovascular medicine*. *Circulation*. 1998;98(11):1148-9.
- Pomeranz MM, Friedman LJ, Tunick IS. Roentgen findings in alcaptonuric ochronosis. *Radiology* 1941;37:295-99.
- Buist NRM. Set of simple side-room urine tests for detection of inborn errors of metabolism. *Br Med J* 1968;2:745-49.
- Koska L, Sršeň S. A simple urine screening test for alcaptonuria. *N Engl J Med* 1977;297:1471-72.
- Bory C, Bouliou R, Chantin C, Mathieu M. Diagnosis of alcaptonuria: rapid analysis of homogentisic acid by HPLC. *Clin Chim Acta* 1990;189:7-12.
- Tanaka K, West-Dull A, Hine G, Lynn B, Lowe T. Gas chromatographic method of analysis for urinary organic acid II. Description of the procedure, and its application to diagnosis of patients with organic acidurias. *Clin Chem* 1980;26:1847-53.
- La Du BN. Alcaptonuria. En Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. eds *The Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease*. 8ª ed. New York, Mc.Graw-Hill, 2001;pp2190-23.
- Lustberg TJ, Schulman JD, Seegmiller JE. Decreased binding of (14)C-homogentisic acid induced by ascorbic acid in connective tissues of rats with experimental alcaptonuria. *Nature* 1970;228:770-1.
- La Du BN. Are we ready to cure alcaptonuria? *Am J Hum Genet* 1998;62:765-8.
- Pollak MR, Chou YHW, Cerda JJ et al. Homozygosity mapping of the gene for alcaptonuria to chromosome 3q2. *Nature Genet* 1993;5:201-4.
- Montagutelli X, Lalouette A, Coude M, et al. Aku, a mutation of the mouse homologous to human alcaptonuria, maps to chromosome 16. *Genomics* 1994;19:9-11.
- Wang TR, Hwu WL. Alcaptonuria in a Chinese baby. *J Inher Metab Dis* 1989;12:327.
- Simoni RE, Honório de Oliveira CP, Grassiano DM, Faria MS et al. Alcaptonuria in a Brazilian baby. *J Inher Metab Dis* 1993;16:157.
- Vela M, Cicerón I, Pérez-Andrade ME, Ortiz J, et al. Interpretación del tamiz metabólico. Generalidades (I de IV partes). *Acta Pediatr Méx* 2001;22(6):432-40.