

Een man met familiale artrose, ochronose, donkerkleurende urine en zwart oorsmeer

P.M.W. JANSSENS¹, M. JANSSEN² en J.G.N. de JONG³

Een volwassen man wordt beschreven die zich presenteerde bij een reumatoloog met familiair voorkomende artrotische klachten, ochronose en donkerkleurende urine en oorsmeer. Op basis van deze klinische en anamnestiche bevindingen werd de diagnose ochronose als gevolg van alkaptonurie gesteld. Deze diagnose werd later bevestigd door middel van DNA-onderzoek, waarbij bleek dat de patiënt 'compound'-heterozygoot was voor twee puntmutaties in het gen voor homogentisinezuuroxidase.

Trefwoorden: casuïstiek; erfelijke metabole ziekte; stofwisselingsziekte; diagnostiek; alkaptonurie; ochronose; homogentisinezuur

Casusbeschrijving

Presentatie en kliniek

Een 33-jarige man presenteerde zich op het spreekuur van de reumatoloog vanwege familieonderzoek. Bij zijn 6-jaar-oudere broer was eerder ochronose gediagnosticeerd, een generaliseerde pigmentatie van de bindweefsels. Dit leverde voor de patiënt de verdenking dat er bij hem ook sprake van ochronose zou kunnen zijn. De man had sinds een paar jaar rugklachten, pijn in de heupen, 'knappende' knieën, ochtendstijfheid, pijn op wisselende plaatsen, moeheid en een opkomende doofheid. *En passant* merkte de patiënt op dat hij altijd al zwart oorsmeer had. Bij klinisch onderzoek kwamen er geen andere afwijkingen aan het licht. Een 'aardige' vermelding van de patiënt was, dat zijn moeder had verteld dat van hem evenals van zijn broer, de natte katoenen luiers vroeger altijd donker verkleurden in de zon.

Laboratoriumonderzoek en diagnose

Op basis van de klinische verschijnselen, het typische kenmerk dat de urine donker verkleurde in de zon en het familiale voorkomen van deze verschijnselen werd de diagnose ochronose/alkaptonurie gesteld. Analyse van de organische zuren in de urine, waarmee

het voor alkaptonurie kenmerkende homogentisinezuur had kunnen worden aangetoond, was niet uitgevoerd.

Bij zijn presentatie en ook daarna had de patiënt, evenals zijn broer met ochronose, doorlopend een fors verhoogd γ -GT (in de loop der jaren 600 - 1100 U/l; referentiewaarde < 50 U/l), waarschijnlijk secundair aan fors alcoholgebruik. Tekenen voor eventueel andersoortige leverpathologie werden niet gevonden.

Negen jaar nadat op genoemde gronden de diagnose alkaptonurie werd gesteld, werd er DNA-onderzoek naar alkaptonurie verricht. Dit gebeurde bij de patiënt, zijn broer en een nicht. Uit dit onderzoek bleek dat zowel de patiënt als zijn broer compound heterozygoten waren voor mutaties in het gen voor homogentisinezuuroxidase: in het ene allel werd de in Europa veelvoorkomende mutatie M368V aangetoond, in het andere de op het moment van onderzoek nog nieuwe mutatie A122D (thans ook beschreven; 1-3). De nicht was carrier voor alleen de A122D-mutatie. Voor zover daar nog twijfel over was, bevestigden deze resultaten de diagnose alkaptonurie bij onze patiënt (en zijn broer).

Bij geen van de andere familieleden werd verder (aansluitend) ochronose/alkaptonurie gediagnosticeerd.

Verder beloop

De patiënt werd niet specifiek voor zijn ochronose/alkaptonurie behandeld, aangezien er hiervoor geen bewezen effectieve behandeling bekend was, zeker niet ten tijde van de diagnose. Na de op 33-jarige leeftijd gestelde diagnose was er tenminste 10 jaar sprake van een onveranderde situatie met artrose, waarbij er spondylose van de lumbale wervelkolom was (spondylose: artrose van de wervelkolom), ankylose (vastgroeien van gewrichten), radiculair syndroom (het bekneld raken van de zenuwen die tussen de ruggewervels uittreden) en artrosis deformans van de knieën. De patiënt werd rond zijn veertigste 'afgekeurd' voor betaalde arbeid. Er was geen verdere achteruitgang door artrotische klachten.

In de tien jaar na het stellen van de diagnose had de patiënt achtereenvolgens nog de volgende klinische klachten. Hij had jicht. Tijdens de episode van jicht, was het urinezuur in het bloed van de patiënt verhoogd en waren er uraatkristallen in het synoviaalvocht van het betreffende gewricht. Voorts bleek de patiënt op een bepaald moment een matige hyperlipidemie te hebben, hetgeen hij nog niet had ten tijde van de diagnose alkaptonurie. Cholesterol en trigly-

Klinisch Chemisch Laboratorium¹ en Afdeling Reumatologie², ziekenhuis Rijnstate, Arnhem, Universitair Medisch Centrum St. Radboud, Nijmegen³

Correspondentie: Dr. P.M.W. Janssens, Klinisch Chemisch Laboratorium, Ziekenhuis Rijnstate, postbus 9555, 6800 TA Arnhem
E-mail: pjanssens@alysis.nl

ceriden in zijn bloed waren 8,3 mmol/l respectievelijk 16,7 mmol/l, waarschijnlijk als gevolg van het eerder geconstateerde alcoholgebruik. De patiënt werd geadviseerd het alcoholgebruik te verminderen, omdat dit aan de basis zou kunnen liggen van de afwijkende biochemische waarden (behalve de lipiden ook het verhoogde γ -GT en het urinezuur).

In recente jaren had de patiënt hartklachten. Op zich behoeft dit gezien de incidentie van hart- en vaatziekten bij mensen van middelbare leeftijd en met overgewicht (zoals deze patiënt had) niet direct verbazing te wekken. Het is echter interessant te melden dat arteriosclerose en aortaklepstenose ook gerelateerd zijn aan homogentisinezuurdepositie in de vaatwand (4, 5). Het causale verband van alkaptonurie en hartklachten is echter niet geheel helder (4).

Beschouwing

Alkaptonurie is historisch gezien de eerste stofwisselingsziekte die als zodanig herkend is. Al in 1859 werd een patiënt met alkaptonurie beschreven (4). De auteur indertijd, Boedeker, gaf de naam alkapton aan de ziekte, vanwege de waarneming dat urine onder alkalische omstandigheden een versterkte zuurstofopname en donkere verkleuring vertoonde. De bekende Archibald Garrod bracht in 1909 naar voren dat er mogelijk een enzymdefect ten grondslag zou kunnen liggen aan de ziekte. Daarmee werd alkaptonurie een voorbeeld voor de uitwerking van de Mendel-wetten bij mensen en speelde een belangrijke rol bij de ontwikkeling van het concept van aangeboren stofwisselingsziekten. In 1958 vond overigens pas de definitieve bevestiging van het lang veronderstelde enzymdefect plaats.

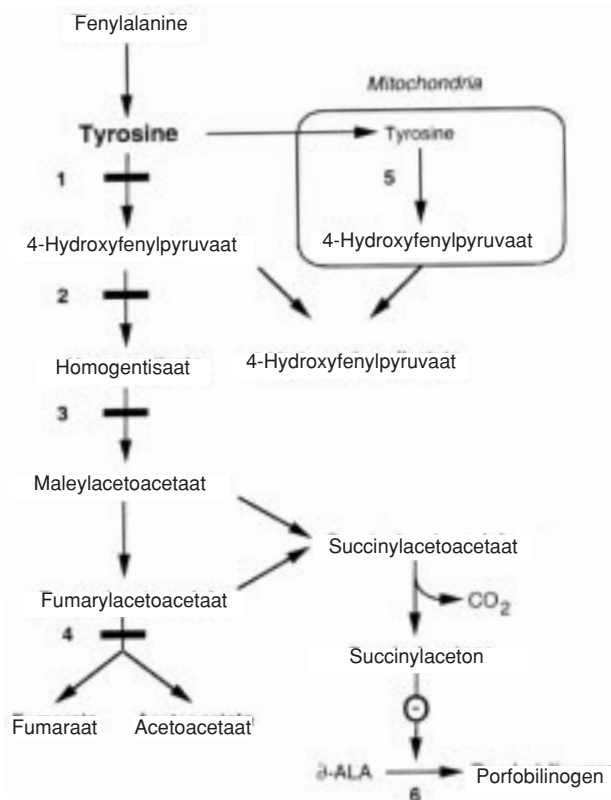
Differentiaaldiagnose

Gewrichtsklachten, waarvoor onze patiënt bij de reumatoloog kwam, komen zeer algemeen voor, en kennen uiteenlopende oorzaken. Het was de bij zijn broer geconstateerde ochronose, tezamen met het familiair voorkomen daarvan, en het verhaal van levenslang al donker verkleurende urine, die een zeer waarschijnlijke diagnose zonder uitvoerig laboratoriumonderzoek mogelijk maakte. De differentiaaldiagnose voor donkere verkleuring van de huid of het bindweefsel is beperkt. Na inname van het geneesmiddel atabrine en carbolzuur-bevattende medicijnen kan er pigmentatie van de huid, het nagelbed, de conjunctiva optreden die enigszins lijkt op ochronose. Verwarring met alkaptonurie is hierbij echter moeilijk voorstelbaar, omdat deze pigmentaties medicijnafhankelijk zijn en reversibel. Verder kunnen ook melanotische tumoren tot pigmentatie, lijkend op ochronose, leiden. Ook deze oorzaak van de pigmentatie is klinisch vrij makkelijk thuis te brengen. Bij alkaptonurie is de pigmentatie niet-reversibel en ook enigszins anders in zijn verschijning vergeleken met het melanoom. Zo is bij alkaptonurie verkleuring te zien in de oorschelpen, een gevolg van verkleuring van het kraakbeen. Samen met een verhaal van levenslang voorkomen van donker verkleurende urine moet onderscheid met de andere klinische beelden waarbij pigmentatie voorkomt dan ook geen probleem te zijn.

Ook voor donker verkleurende urine zijn er verder naast alkaptonurie weinig andere oorzaken denkbaar. Urine met een vreemde donkere kleur door een fysiologische/pathologische oorzaak (dus geen medicijnen) kan behalve bij alkaptonurie (bruinzwarde kleur) voorkomen bij myoglobinurie (bruinrode, cola-achtige kleur) en bij porfyrie (sherry-rode kleur). Aan de hand van de urinekleur zou dus ook al bijna een (waarschijnlijkheids)diagnose gesteld kunnen worden. Onze patiënt illustreert deze wijze van diagnosestelling, dat wil zeggen diagnose in eerste instantie gesteld op basis van klinische bevindingen, (familie-) anamnese en eenvoudige waarnemingen (evt. tests), zonder metabool of moleculair-biologisch onderzoek. Pas veel later werd de aanvankelijk gestelde diagnose alkaptonurie voor onze patiënt door middel van DNA-onderzoek bevestigd.

Biochemisch defect alkaptonurie

Alkaptonurie is het gevolg van een deficiëntie van het homogentisinezuuroxidase (synoniem homogentisinezuur-1,2-dioxygenase), een enzym in het fenylalanine/tyrosinemetabolisme. Alkaptonurie is één van tyrosine-stofwisselingsziekten waarbij er geen verhoogde tyrosinespiegel in het bloed gevonden wordt. Door de enzymblokkade ter hoogte van het homogentisinezuuroxidase hoopt zich homogentisinezuur op, een metaboliet van tyrosine (figuur 1). Het enzym



Figuur 1. De afbraakroute van tyrosine, met daarin de vorming van homogentisinezuur. 1. Tyrosine-aminotransferase, 2. 4-hydroxyfenylpyruvaatdioxygenase, 3. homogentisinezuur oxidase, 4. fumarylacetoacetase, 5. aspartaat-aminotransferase, 6. δ -aminolevenulinezuurdehydratase. Enzymdefecten in de route die voorkomen bij bekende erfelijke stofwisselingsziekten zijn aangegeven met een dikke streep over de pijlen. Bij alkaptonurie is er een enzymdeficiëntie in omzetting nummer 3 (homogentisinezuurdioxygenase). Uit: ref.13.

homogentisinezuuroxidase is voornamelijk in de lever en nieren gelokaliseerd en, voor zover onderzocht, nauwelijks in andere weefsels. Homogentisinezuur komt bij gezonde mensen nauwelijks in het lichaam voor omdat de lever een hoge metabole capaciteit heeft en de stof efficiënt door de nieren, door actieve uitscheiding door de niertubuli, wordt geklaard. Bij gezonde individuen resulteert zelfs een forse orale bolus van 5 g homogentisinezuur in een marginale homogentisinezuurverhoging in het plasma (4). Zodoende hebben niet alleen gezonden geen meetbaar homogentisinezuur in het plasma (evenmin als overigens in de urine), maar hebben zelfs ook patiënten met alkaptonurie slechts licht verhoogde plasma-homogentisinezuurconcentraties (4). In de urine is de concentratie van homogentisinezuur bij patiënten daarentegen hoog.

Ophopend homogentisinezuur oxideert in het lichaam onder invloed van het enzym polyfenoloxidase gemakkelijk tot benzoquinonazijnzuur, wat waarschijnlijk een toxisch metaboliet is en een precursor van het donkerkleurige polymere pigment dat zich afzet in diverse weefsels. Het is voor de hand liggend, doch niet bewezen, dat de pigmentophoping direct verantwoordelijk is voor de aantasting van het kraakbeen. Mogelijk werkt het pigment als chemisch irriterende stof, die enzymen betrokken bij het kraakbeenmetabolisme remt. Het donker verkleurende kraakbeen is bij levende personen als eerste zichtbaar in de oorschelp. Interessant is dat kennelijk ook andere secreten uit het lichaam de donkere homogentisine-kleur kunnen hebben, bijvoorbeeld zweet of oorsmeer, zoals bij onze patiënt.

Alkaptonurie erft autosomaal recessief over. Het gen voor homogentisinezuuroxidase is gelokaliseerd op chromosoom 3, en in 1996 gekloneerd en ge'sequenced' (4). Het bestaat uit 14 exonen. Er zijn bij mensen tenminste 20, en met proefdieren tezamen genomen, meer dan 80 mutaties bekend met effect op de enzymactiviteit en/of synthese van homogentisinezuuroxidase (6). Circa de helft hiervan zijn missensemutaties (puntmutaties leidend tot aminozuursubstitutie). Daarnaast zijn er ook mutaties leidend tot een frame-shift in het reading frame van het gen, mutaties in introns en splice-site mutaties, plus diverse polymorfismen (6). Het DNA-onderzoek dat bij onze patiënt werd gedaan, toonde dat de patiënt 'compound'-heterozygoot was voor twee beschreven mutaties in het homogentisinezuuroxidase-gen. Mutatie M368V die hij had is een in Europa veelvoorkomende puntmutatie (1, 2), mutatie A122D een van vele minder vaak voorkomende (3).

Diagnostiek

De urine bij alkaptonurie wordt donker als gevolg van oxidatie van homogentisinezuur aan de lucht. Bij een hoge pH verloopt deze donkere verkleuring sneller. Aangezien homogentisinezuur een oxiderende verbinding is, kan bij alkaptonurie een positieve reactie in een reductietest worden gevonden. Deze eenvoudige doch duidelijke waarnemingen aan urine van een patiënt leiden samengenomen met de klinische

bevindingen gemakkelijk tot een zeer waarschijnlijke diagnose van alkaptonurie, zoals het geval van onze patiënt illustreert.

Het aantonen van homogentisinezuur in de urine door middel van organischezurenanalyse met gaschromatografie kan als bevestigend voor een diagnose worden gezien. Organischezurenonderzoek maakt ook pre-symptomatische diagnose mogelijk. Voordat DNA-onderzoek mogelijk was, was verdere bevestiging van de diagnose eventueel nog mogelijk door middel van enzymmeting in een leverbiopt. Dit werd uiteraard zelden gedaan, gezien het invasieve karakter van deze ingreep, de relatief milde gevolgen van de ziekte en de zonder leverbiopsie al zo goed als zeker gestelde diagnose. Thans wordt voor bevestiging van de diagnose veelal DNA-diagnostiek ingezet. Met behulp van DNA-diagnostiek is in principe ook detectie van heterozygoten en prenatale diagnostiek mogelijk, wat op basis van het metabolietenonderzoek voorheen niet mogelijk was. Het nut van prenatale diagnostiek staat overigens niet vast. Diagnose op jonge kinderleeftijd is echter wel wenselijk om duidelijkheid over gevonden afwijkingen en de ziekte te kunnen verschaffen en inzicht te krijgen in de mogelijk gunstige effecten van therapie.

Kliniek

Klinisch is er bij alkaptonurie sprake van een kenmerkende trias: ochronose, kraakbeendegeneratie en verhoogde uitscheiding van homogentisinezuur. Deze klinische symptomen openbaren zich doorgaans pas op volwassen leeftijd, rondom de tweede en derde decade. De ochronose bij alkaptonurie resulteert bij volwassenen vanaf ongeveer de derde decade in het ontstaan van ernstige degeneratieve kraakbeenafwijkingen. Klinisch wordt dit beeld beschreven als premature artrosis deformans. Het gaat ook wel gepaard met aanvallen van acute artritis. Veelvoorkomende klachten zijn ankylose van de lumbale-sacrale wervelkolom, spondylose, en artrose van de knieën. In de loop der jaren kan er progressie zijn tot zeer moeizame/pijnlijke mobiliteit, en invaliditeit. Röntgenfoto's geven een kenmerkend beeld van de wervelkolom, met degeneratie en calcificatie van de tussenwervelschijven en aan elkaar vastgroeien van de wervels.

Dat de klachten bij alkaptonurie zich pas relatief laat openbaren, terwijl het metabole defect aanwezig is vanaf de geboorte, betekent dat de progressieve ophoping van ongewenste stof(fen) pas op een gegeven moment secundaire schade en klachten gaat opleveren. Het eerste wat men bij patiënten met alkaptonurie van de pigmentophoping ziet is een donkere verkleuring in het kraakbeen (bijv. oorschelpen). In de loop van de tijd kan er ook meer en meer pigmentatie van de conjunctiva, de cornea en (in mindere mate) op de rest van het lichaam en huid verschijnen. De urine van veel, doch lang niet alle patiënten is vanaf het vroegste moment verkleurd en ook andere secreten kunnen, zoals gezegd, een donkere kleur hebben. De donkere verkleuring van weefsels wordt in de loop der jaren steeds erger. Zo krijgt de huid in de loop der jaren meer en meer een donkere kleur, met name op

plaatsen waar men veel transpireert (neus, kaken, axillaire en pubusgebied). Echt zeer opvallend kan een ochronose (soms pas) zichtbaar worden bij een operatie, of bij obductie na overlijden van de patiënt. Dan kan gezien worden dat overall in het lichaam kraakbeenweefsels en bot donkerbruin-zwart gepigmenteerd zijn, een uiterst curieus beeld. Andere klinische klachten die in verband zijn gebracht met alkaptonurie zijn van cardiovasculaire aard, nierstenen en prostatitis, doch een oorzakelijke relatie van deze klachten met alkaptonurie wordt nog niet als vaststaand beschouwd (4). Al met al is de levensverwachting van patiënten met alkaptonurie niet duidelijk korter dan van gezonde mensen.

Er is geen bewezen gunstige behandeling die de ophoping van homogentisinezuur vermindert, en/of de bijkomende klinische gevolgen tegengaat. Gezien de positie van het defect in het tyrosine-fenylalanine-metabolisme, lijkt op theoretische gronden een tyrosine- of fenylalaninebeperkt dieet (bijvoorbeeld in de vorm van een mild eiwitbeperkt dieet) een goede overweging om de homogentisinezuurproductie/-ophoping te verminderen. Bij patiënten waarbij een dergelijke therapie (eventueel aangevuld met hoge doses vitamine C) op jonge leeftijd wordt gestart lijkt dit een gunstig effect te hebben op de klinische klachten, tenminste op relatief korte termijn (enkele jaren) (7). Of (milde) eiwitbeperking op lange termijn veel uithaalt valt echter af te wachten, zeker gezien het feit dat de homogentisinezuuruitscheiding allesbehalve normaliseert onder deze therapie (4, 7). Het is verder makkelijk in te zien dat therapietrouw bij alkaptonurie nogal een probleem is, met name vanwege het feit dat de symptomen zich pas op latere leeftijd openbaren. Voor al te rigoureuze eiwitbeperking gedurende lange tijd dient gewaakt te worden, want zowel tyrosine als fenylalanine zijn essentiële aminozuren; bij voorkeur worden de aminozuurspiegels in bloed tijdens therapie regelmatig gecontroleerd. Op theoretische gronden wordt ook therapie met hoge doses vitamine C (ascorbinezuur) wel veelbelovend geacht (4). Vitamine C zou de oxidatie van homogentisinezuur tegengaan, met als mogelijk gevolg een vermindering van de ophoping van het ochronotische pigment dat uit homogentisinezuur ontstaat, en daarmee de remming van sommige enzymen betrokken bij de kraakbeensynthese door ochronotische producten voorkomen en de homogentisinezuuruitscheiding bij patiënten doen toenemen (4, 8, 9). Het resultaat van een systematische toepassing van deze therapie moet echter worden afgewacht. Dit geldt eveneens voor het medicijn NTBC (2-(2-nitro-4-trifluoromethylbenzoyl)-1,3-cyclohexanedione), een verbinding die het 4-hydroxyfenylpyruvaatoxidase remt en zodoende de vorming van homogentisinezuur afremt (figuur 1; 10). NTBC wordt ook wel gebruikt voor de behandeling van tyrosinemie type I, doch de verbinding heeft helaas als bijwerking dat het de kans op hepatocellulair carinoom verhoogt (11, 12).

Dankbetuiging

Wij danken mw. dr. E. Morava, UMC St. Radboud, Nijmegen, voor nuttig commentaar op het manuscript.

Literatuur

1. Beltran-Valero de Bernabe D, Granadino B, Chiarelli I, Porfirio B, Mayatepek E, Aquaron R, Moore MM, Festen JJ, Sanmarti R, Penalva MA, de Cordoba SR. Mutation and polymorfism analysis of the human homogentisate 1,2-dioxygenase gene in alkaptonuria patients. *Am J Hum Genet* 1998; 62: 776-784.
2. Beltran-Valero de Bernabe D, Peterson P, Luopajarvi K, Matintalo P, Alho A, Kontinen Y, Kuhn K, Rodriguez de Cordoba S. Mutational analysis of the HGO gene in Finnish alkaptonuria patients. *J Med Genet* 1999; 36: 922-923.
3. Beltran-Valero de Bernabe D, Jimenez FJ, Aquaron R, Rodriguez de Cordoba S. Analysis of alkaptonuria (AKU) mutations and polymorphisms reveals that the CCC sequence is a mutational hot spot in the homogentisate 1,2 dioxygenase gene (HGO). *Am J Hum Genet* 1999; 64: 1316-1322.
4. La Du, BN. Alkaptonuria. in: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic basis of inherited disease*, 8th ed. McGraw-Hill Company, 2001: 2109-2123.
5. Vavuranakis M, Triantafillidi H, Stefanadis C, Toutouzas P. Aortic stenosis and coronary artery disease caused by alkaptonuria, a rare genetic metabolic syndrome. *Cardiology* 1998; 90: 302-304.
6. Rodrigues JM, Timm DE, Beltran-Valero de Bernabe D, Criado O, Mueller HA, Rodriguez de Cordoba S, Penalva MA. Structural and functional analysis of mutations in alkaptonuria. *Hum Mol Genet* 2000; 9: 2341-2350.
7. Morava E, Kosztolanyi G, Engelke UFH, Wevers R. Reversal of clinical symptoms and radiographic abnormalities with protein restriction in alkaptonuria. *Ann Clin Biochem* 2003; 40:1-4.
8. Murray JC, Lindberg KA, Pinnell SE. In vitro inhibition of chick embryo lysyl hydroxylase by homogentisic acid. *J Clin Invest* 1977; 59: 1071-1079.
9. Mayatepek E, Kallas K, Anninos A, Muller E. Effects of ascorbic acid and low-protein diet in alkaptonuria. *Eur J Pediatr* 1998; 157: 867-868.
10. Anikster Y, Nyhan WL, Gahl WA. NTBC and alkaptonuria. *Am J Hum Genet* 1998; 63: 920-921.
11. Holme E, Lindstedt S. Nontransplant treatment of tyrosinemia. *Clin Liver Dis* 2000; 4: 805-814.
12. Spronsen FJ van. Tyrosinemie type I: een snufje landbouwgif doet wonderen. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk* 2003; 28: 309-312.
13. Kvittingen EA, Holme E. Disorders of tyrosine metabolism. In : Fernandes J, Saudubray J-M, van den Berge G. *Inborn metabolic diseases*. Springer Verlag, Berlin, 2000: ch.15.

Summary

A patient with familiar arthrosis, ochronosis and dark colouring urine and black ear lubricant. Janssens PMW, Janssen M, Jong J de. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2003; 28: 333-336.

An adult patient is described who presented with familiar occurrence of arthrosis, ochronosis and dark colouring urine and ear lubricant. The patient was diagnosed to have ochronosis resulting from alkaptonuria. Several years later, the diagnosis alkaptonuria was confirmed by DNA-investigations. The patient proved to be a compound heterozygote for two known mutations in the gene for homogentisic oxidase (homogentisate 1,2-dioxygenase) 368W and A112D.

Key words: casuistic; inborn error of metabolism; inherited metabolic disease; diagnosis; alkaptonuria; ochronosis, homogentisic acid