



di Chimica Biologica della R. Università di Roma  
Direttore: Prof. G. AMANTEA  
di Clinica Medica Generale e Terapia Medica  
della R. Università di Messina  
Direttore: Prof. G. BOSSA

DOTT. ANGELO D'AGATA

## L'ALCAPTONURIA

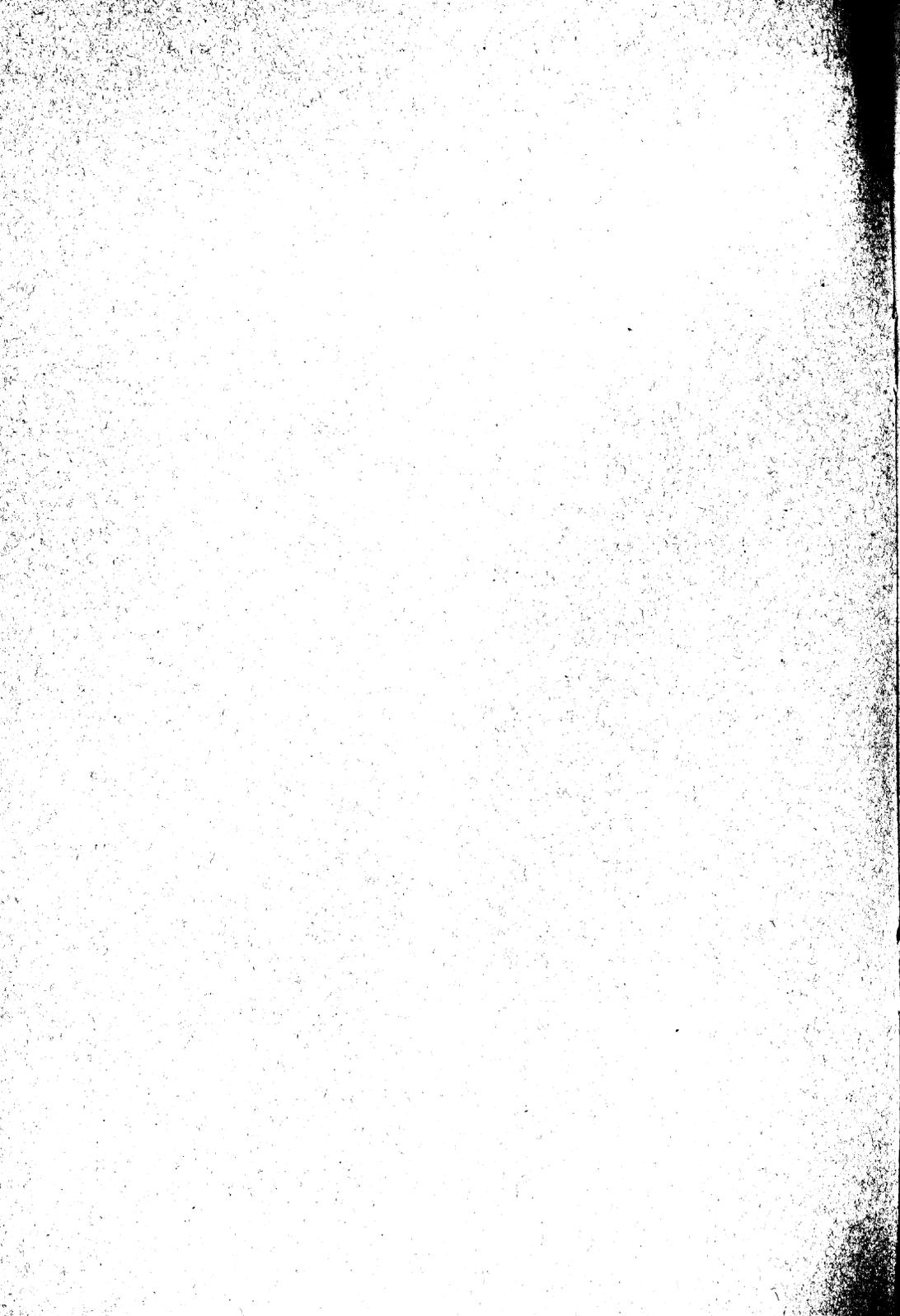
Estratto da:

ENDOCRINOLOGIA E SCIENZA DELLA COSTITUZIONE

*Arch. Pat. e Cl. Medica - Fasc. II - giugno 1943*



*Muse  
B  
69-2*



ISTITUTO DI CHIMICA BIOLOGICA DELLA R. UNIVERSITÀ DI ROMA

Direttore: Prof. G. AMANTEA

ISTITUTO DI CLINICA MEDICA GENERALE E TERAPIA MEDICA  
DELLA R. UNIVERSITÀ DI MESSINA

Direttore: Prof. G. BOSSA

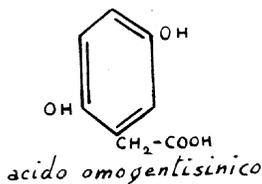
Mix  
B  
p. 2

## L'ALCAPTONURIA

DOTT. ANGELO D'AGATA

**SOMMARIO.** — Definizione. - Cenni storici. - Natura dell'alcaptone. - Metabolismo della fenilalanina e della tirosina. - L'acido omogentisinico, tappa intermedia del normale metabolismo della tirosina. - L'acido omogentisinico nell'urina e nel sangue. - Turbe del ricambio degli aminoacidi aromatici: alcaptonuria, tirosinosi, oligofrenia fenilpiruvica. - Ereditarietà. - Patogenesi dell'alcaptonuria. - Alcaptonuria sperimentale. - Sintomatologia: presenza dell'acido omogentisinico nell'urina e deposito nei tessuti. - Metodi di esame per la ricerca dell'acido omogentisinico. - Ocronosi ed artrite ocronotica: reperti anatomico-patologici e radiologici. - Diagnosi. - Prognosi. - Terapia. - Bibliografia.

Sotto il nome di alcaptonuria oggi si intende una particolare forma morbosa, caratterizzata da un difettoso metabolismo di alcuni aminoacidi aromatici, fenilalanina e tirosina, per cui la serie delle loro trasformazioni ossidative, anziché compiersi in maniera completa, come in condizioni normali, si arresta all'acido 2:5 di-idrossifenilacetico, detto comunemente acido omogentisinico, che viene quindi a ritrovarsi nell'urina:



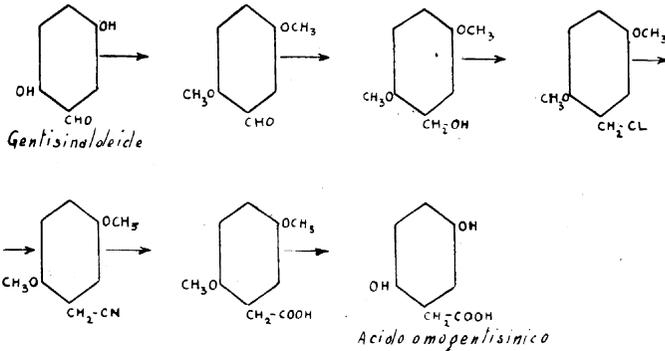
Si deve al BOEDEKER (1859) la scoperta dell'alcaptonuria, e fu lo stesso BOEDEKER che designò col nome di alcaptone (alkali καπρίν) la sostanza, a lui ignota, che viene ad essere eliminata con l'urina, ed alla quale attribuì un forte potere riducente, nonché la proprietà di acquistare una tinta bruno-scuro, fino al nero, prontamente per l'aggiunta di alcali, lentamente lasciando l'urina qualche tempo esposta all'aria.

L'acido omogentisinico fu isolato per la prima volta dalle urine di un alcaptonurico da WOLKOW e BAUMANN (1891) e da essi chiamato

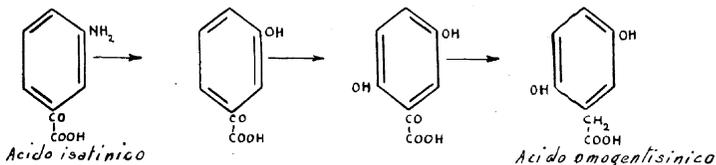
acido idrochinon-acetico, in quanto apparve come un derivato dello idrochinone.

Per quanto si riferisce alla natura dell'alcaptone, EBSTEIN e MÜLLER (1875) pensarono che si trattasse di una sostanza vicina alla pirocatechina.

Ma la conoscenza dell'esatta costituzione dell'alcaptone si deve a BAUMANN e FRÄNKEL (1894), che lo prepararono per sintesi dalla gentisinaldeide (1:4 diossibenzaldeide); il prodotto risultò l'omologo superiore dell'acido ossisalicilico o idrochinoncarbonico o gentisिनico, e per questo chiamato acido omogentisिनico:



Più tardi OSBORNE (1903) ed in seguito NEUBAUER e FLATOW (1907) lo ottennero di nuovo per sintesi dall'acido isatinico:



Dalle urine alcaptonuriche fu isolato un altro ossiacido aromatico da KIRK (1889) e poi da HUPPERT (1897) e da LANGSTEIN e MEYER (1903), e venne chiamato acido uroleucिनico (acido diossifenillattico). Ma tale reperto fu successivamente negato da GARROD (1902), da NEUBERG (1907); e GARROD e HURTLEY (1907), controllando lo stesso preparato originale di KIRK conclusero trattarsi di acido omogentisिनico impuro; alla stessa conclusione giunse ADLER (1909), studiando un altro caso di alcaptonuria.

Ma successivamente UMBER potè mettere in evidenza nella urina alcaptonurica, oltre l'acido omogentisिनico, anche l'acido uroleucिनico,

che si differenzia dal primo, per il diverso punto di fusione (133°), che è più basso di quello dell'acido omogentisinico, per il fatto che non è precipitabile dai sali di piombo e perchè con percloruro di ferro dà colorazione verde.

Successivamente l'acido uroleucinic fu riscontrato anche da altri AA., e si è incerti se si accompagni sempre all'acido omogentisinico; certo la sua presenza è di solito in quantità minima e tale perciò da sfuggire spesso all'indagine chimica (GHIRARDI).

L'eventuale esistenza nelle urine alcaptonuriche di un particolare acido idrochinonpiruvico (NEUBAUER, 1909) fu successivamente negata (FLATOW, 1910).

Che l'acido omogentisinico fosse legato al ricambio degli aminoacidi aromatici si è pensato già da moltissimi anni; ma la prima prova sperimentale della partecipazione della tirosina al fenomeno dell'alcaptonuria si deve a BAUMANN e WOLKOW (1891). Tali AA. ottennero in un alcaptonurico un aumento proporzionale nell'eliminazione dell'acido omogentisinico, in seguito all'ingestione di determinate dosi di tirosina; l'aumento dell'acido omogentisinico dopo ingestione di 10 g di tirosina fu di g 7,5, cioè corrispondente a più dell'80% della quantità teoricamente calcolata. Le esperienze furono riprese e confermate da MITTELBACH (1901), che ottenne una trasformazione corrispondente al 93%.

In seguito alle proprie ricerche BAUMANN e WOLKOW (1891) espressero l'opinione, che l'alcaptonuria fosse da riferire ad un perturbamento del ricambio degli aminoacidi aromatici, e specialmente della tirosina.

Qualche anno dopo, OGDEN (1894) e STANGE (1896) con una dieta esclusiva di proteine ottennero l'eliminazione di una quantità di alcaptone doppia rispetto a quella eliminata con una dieta mista.

MITTELBACH (1901) sperimentò escludendo dall'alimentazione sostanze proteiche, ed ottenne una netta diminuzione dell'eliminazione di acido omogentisinico; infatti la quantità giornalmente eliminata, che era di g 4,66 con un cibo misto, si abbassò a g 2,97 escludendo le sostanze proteiche, ed a g 2,57 in condizioni di digiuno. Allo stesso risultato pervennero LANGSTEIN e MEYER (1903), ed in seguito GRUTTERINK (1908), che, sperimentando con dieta di soli idrati di carbonio e grassi, videro pure diminuire l'alcaptone senza che per altro scomparisse. Era logico pertanto pensare che l'acido omogentisinico, che poteva ancora essere eliminato in tali condizioni sperimentali, derivasse dalle proteine cellulari; ne derivò quindi la distinzione fra alcaptonuria endogena ed alcaptonuria esogena.

Si calcolò inoltre, che il contenuto in tirosina delle sostanze proteiche alimentari non era tale, da giustificare da solo il forte innal-

zamento accertato nell'eliminazione dell'acido omogentisinico, e che necessariamente anche altre sostanze aromatiche, dovessero cooperare con la stessa tirosina. Si rivolse perciò l'attenzione in primo luogo alla fenilalanina.

Che anche questo aminoacido potesse prender parte alla formazione dell'acido omogentisinico, era stato già supposto da BAUMANN e WOLKOW. Ma tale idea non fu accettata da H. EMBDEN (1893), il quale, avendo sperimentato somministrando ad un alcaptonurico fenilglicocolle e acido fenilacetico, concluse che nessun derivato benzolico privo di idrossile, e quindi neanche la fenilalanina, potesse prender parte alla formazione di acido omogentisinico. Ciò non risultò confermato dalle successive ricerche di FALTA, LANGSTEIN e MEYER.

FALTA e LANGSTEIN (1903) infatti poterono dimostrare che, somministrando ad un alcaptonurico della l-fenilalanina si aveva un netto aumento di acido omogentisinico, come se tutta la l-fenilalanina si trasformasse quasi quantitativamente in acido omogentisinico; la somministrazione di dl-fenilalanina dava aumento dell'acido omogentisinico urinario, ma più limitato rispetto a quello dovuto alla l-fenilalanina. Già prima GONNERMANN (1900), BERTEL (1902) e CZAPEK (1903) avevano sospettato che, nei vegetali l'acido omogentisinico derivasse come prodotto normale dalla fenilalanina e dalla tirosina.

Si deve dunque ritenere che, oltre la tirosina, anche la fenilalanina partecipi alla formazione dell'acido omogentisinico. E poichè la quantità di fenilalanina contenuta nelle varie proteine è notevole, si può ammettere, come ha chiaramente dimostrato FISCHER (1906), che i due aminoacidi aromatici, fenilalanina e tirosina, possano insieme spiegare la quantità di acido omogentisinico, che si elimina nei casi di alcaptonuria.

KATSCH, utilizzando i dati di vari autori, ha costruito un quadro (riportato da MONASTERIO), da cui risulta il rapporto tra quantità di tirosina somministrata e aumento della quantità di acido omogentisinico eliminato con l'urina da alcaptonurici; esso permette di rilevare anche differenze individuali di comportamento dei diversi soggetti esplorati:

Autori	Tirosina ingerita in 24 ore g	Quantità calcolata di ac. omog. g	Ac. omog. effettiva- mente escreto g
Wolkow e Baumann . .	10	9,28	6,9
»           »           . .	11,5	10,7	9,4
»           »           . .	12	11,6	9,4
Embden H. . . . .	15	13,9	5
Mittelbach . . . . .	8,5	7,89	7,38
Langstein e Meyer . .	10	9,27	5,44
Katsch e Keller . . . .	5	4,64	2,82

L'aumento di acido omogentisinico nelle urine degli alcaptonurici si ha rapidamente dopo la somministrazione di aminoacidi aromatici, ed ancor prima dell'aumento dell'azoto urinario.

LANGSTEIN e MEYER (1903) studiarono il quoziente  $\frac{\text{acido omogentisinico}}{\text{azoto}}$  e notarono che tale quoziente si mantiene pressochè costante; ricerche successive permisero di osservare che con diete a diverso contenuto proteico si aveva un'oscillazione di tale quoziente, che però variava entro determinati limiti.

NEUBAUER e SACHS ottennero invece una netta diminuzione del quoziente  $\frac{\text{acido omogentisinico}}{\text{azoto}}$  riducendo il contenuto proteico della dieta.

Tali ricerche non furono però confermate, e successivamente altri AA. (REINWEIN, 1931 - HACH, 1934 - LORENZ, 1937) hanno notato che il quoziente di LANGSTEIN e MEYER non veniva ad essere modificato con un regime comportante un minimo di proteine. Per contro un regime povero di idrati di carbonio, produceva un netto abbassamento del quoziente (REINWEIN), che ugualmente si abbassava nel digiuno.

ALLARD e GROSS (1907) trovarono il quoziente  $\frac{\text{acido omogentisinico}}{\text{azoto}}$  aumentato nello stato febbrile.

\* \* \*

Conviene riportare alcune importanti osservazioni di MEDES e di FÖLLING, che è necessario tener presenti per poter meglio discutere e comprendere il problema stesso dell'alcaptonuria.

MEDES (1932) ha rilevato, descritto e studiato in un soggetto una particolare anomalia metabolica, che egli ha chiamato «tirosinosi», caratterizzata dalla eliminazione con l'urina di acido p-idrossifenilpiruvico, sia a digiuno, sia con una dieta priva di tirosina. È questo l'unico caso di tirosinosi finora descritto.

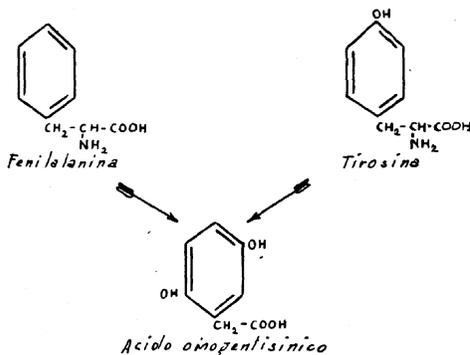
Somministrando tirosina all'infermo, MEDES osservò che aumentava l'eliminazione di acido p-idrossifenilpiruvico coll'urina, in cui compariva anche tirosina; somministrando ancora tirosina notò inoltre nell'urina presenza anche di 1-3:4 diidrossifenilalanina. Somministrando diidrossifenilalanina essa era eliminata in parte immutata, in parte come tirosina, mentre aumentava l'eliminazione di acido p-idrossifenilpiruvico. Somministrando fenilalanina si aveva eliminazione di tirosina, ed aumento dell'acido p-idrossifenilpiruvico, mentre comparivano tracce di acido l-p-idrossifenilattico. Dando acido p-idrossifenilpiruvico, esso compariva immutato nell'urina, mentre si aveva eliminazione di acido l-p-idrossifenilattico, e mancava l'eliminazione

di tirosina. Somministrando acido l-p-idrossifenilattico, esso passava come tale nell'urina. Infine, dando acido omogentisinico, esso non compariva nell'urina.

Altra anomalia del metabolismo degli aminoacidi aromatici, è stata rilevata e descritta da FÖLLING (1934): è caratterizzata dalla eliminazione di acido fenilpiruvico con l'urina. FÖLLING mise in evidenza tale disturbo in alcuni infermi mentali, per cui esso prese il nome di oligofrenia fenilpiruvica. Solo la somministrazione di fenilalanina (FÖLLING, JERVIS, ecc.) faceva aumentare negli infermi l'eliminazione di acido fenilpiruvico; mentre tutti gli altri aminoacidi saggiati, compresa la tirosina (JERVIS, 1938), non davano eliminazione di acido fenilpiruvico.

\* \* \*

Raggiunta la dimostrazione che la fenilalanina e la tirosina sono le sostanze madri, da cui deriva l'acido omogentisinico, rimaneva da stabilire quali fossero le tappe intermedie per passare da quelle a quest'ultimo.



È da rilevare, intanto, che oltre la fenilalanina e la tirosina, altre sostanze, che somministrate ad alcaptonurici si sono finora dimostrate atte a dar luogo alla formazione di acido omogentisinico, sono: l'acido fenilattico, l'acido fenilpiruvico, l'acido ossifenilpiruvico, e l'acido idrochinonpiruvico (NEUBAUER). Parecchie altre invece (acido benzoico, acido fenilacetico, acido fenilpropionico, acido fenilglicerico, ecc.), pure saggiate su soggetti alcaptonurici, hanno fornito risultati negativi.

Il ricambio della fenilalanina e della tirosina rappresenta un punto non ancora oggi completamente chiarito.

Il primo problema, che si affaccia alla nostra mente, è quello di sapere, se si deve fare rientrare il metabolismo della tirosina in quello della fenilalanina. In altri termini, si tratta di stabilire se la fenilalanina, nelle trasformazioni che subisce nell'organismo, passa o non per lo stadio di tirosina, e, in caso positivo, se si trasforma in tirosina tutta o solo in parte.

Già EMBDEN e BALDES (1913) avevano pensato che la prima tappa nel metabolismo della fenilalanina fosse rappresentata dalla sua trasformazione in tirosina.

Ma che la fenilalanina non si trasforma totalmente in tirosina e che in parte sfugge a tale trasformazione, sembra avvalorato dalle riferite osservazioni di FÖLLING, che, somministrando fenilalanina ad infermi affetti da oligofrenia fenilpiruvica, vide aumentare l'eliminazione di acido fenilpiruvico, il quale invece non aumentava per la somministrazione di tirosina.

Del resto che la fenilalanina fosse la sostanza di origine dell'acido fenilpiruvico, anche in condizioni normali, era già stato pensato, ammesso e sostenuto da NEUBAUER (1908), da KNOOP (1910), ma soprattutto da DAKIN (1926). È vero che KOTAKE, MASAI e MORI (1922) somministrando grande quantità di fenilalanina a conigli non ottennero acido fenilpiruvico: però tali ricerche sono state ripetute con esito positivo, pure su conigli, da SHAMBAUGH, LEWIS e TOURTELLOTTE (1931) e da LEWIS (1932).

WOMACK e ROSE (1934) hanno dimostrato che la fenilalanina è essenziale alla nutrizione, e che la tirosina non può sostituirla.

BUTTS, DUNN e HALLMAN (1938) provarono sperimentalmente, che l'attività glicogenetica e chetolitica della fenilalanina e della tirosina è diversa.

Sembra dunque, che non possa essere sostenuta una unica via metabolica obbligata, nel senso della completa trasformazione della fenilalanina in tirosina, come avevano pensato EMBDEN e BALDES, e che invece una parte almeno della fenilalanina segua un diverso metabolismo, trasformandosi in acido fenilpiruvico.

In questo passaggio dalla fenilalanina ad acido fenilpiruvico si è indotti a sospettare, sebbene ancora non sia stato possibile dimostrarlo, che avvenga una prima trasformazione della fenilalanina naturale, cioè della l-fenilalanina, in d-fenilalanina, e che sia questa appunto a trasformarsi in acido fenilpiruvico.

Se infatti ad un infermo affetto da oligofrenia fenilpiruvica, si somministrano le due forme della fenilalanina, la l e la d, si nota che l'acido fenilpiruvico aumenta in modo più evidente con la somministrazione di d-fenilalanina (JERVIS, 1938). Del resto già nel 1933 KRÆBS aveva potuto

dimostrare nel fegato e nel rene di diversi animali la presenza di una deaminasi dei d-aminoacidi con formazione di  $\alpha$ -chetoacidi.

Credo che queste esperienze possano fare pensare alla possibilità della trasformazione di una parte della l-fenilalanina in d-fenilalanina, che sotto l'azione della deaminasi di KREBS darebbe luogo all'acido fenilpiruvico. Che la d-fenilalanina e la l-fenilalanina abbiano un diverso metabolismo, ci viene chiaramente dimostrato dalle esperienze di FÖLLING e CLOSS (1938), che, somministrando a ratti l-fenilalanina in soluzione alcalina, ottennero eliminazione di acido omogentisinico, ciò che non avvenne invece somministrando d-fenilalanina. Pensando che HENDRIKSEN e CLOSS (1938) hanno ottenuto acido fenilpiruvico dalla l-fenilalanina nelle culture batteriche, specie in quelle dei vari tipi di «*Bacillus proteus*» e di «*Bacillus di Morgan*», si potrebbe arguire da ciò la possibilità della trasformazione della l-fenilalanina in d-fenilalanina ad opera di organismi viventi.

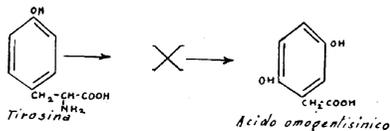
Dall'insieme di queste osservazioni resta assodato, che alla fenilalanina nel suo metabolismo restano aperte due vie, trasformandosi essa in parte in tirosina ed in parte in acido fenilpiruvico.

Certo la quantità di fenilalanina, che in condizioni normali subisce la trasformazione in acido fenilpiruvico, si deve considerare minima, in confronto a quella che subisce la trasformazione in tirosina. Ed è per questo che il metabolismo di tali due aminoacidi aromatici, fenilalanina e tirosina, viene oggi studiato insieme.

Ciò che diremo dunque del metabolismo della tirosina vale anche per la fenilalanina.

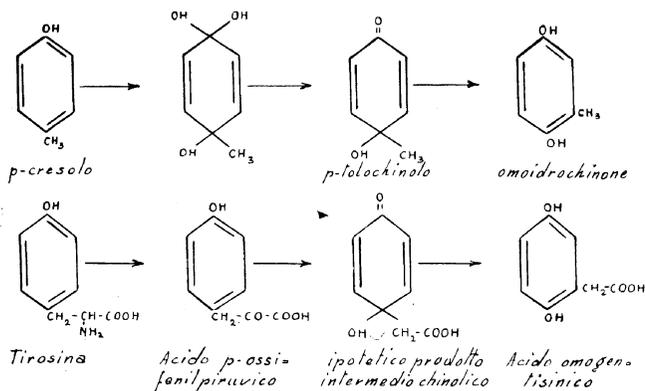
\* \* \*

Tutti gli stadi intermedi della trasformazione della tirosina in acido omogentisinico, neanche oggi possiamo dire che ci siano perfettamente conosciuti:

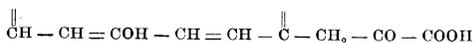


Nel 1910 ELLINGER ammetteva, che si arriverebbe dalla tirosina all'acido omogentisinico attraverso passaggi analoghi a quelli, che si hanno nella trasformazione del p-cresolo in p-tolochinolo (BAMBERGER),

e quindi in omoidrochinone (KUMAGAI e WOLFFENSTEIN), come dal seguente schema :

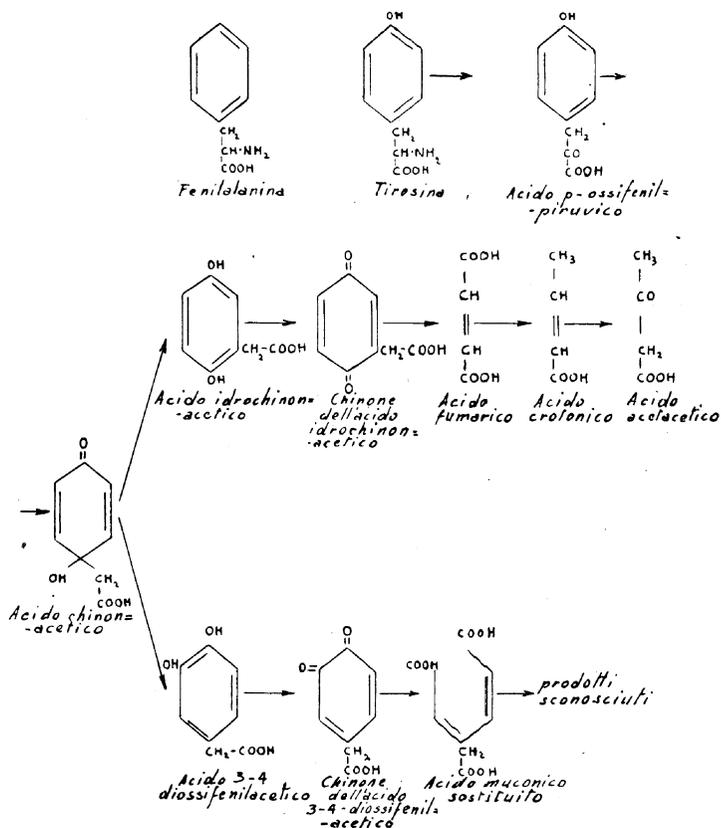


DAKIN (1911) studiando il metabolismo della tirosina, pensò che l'acido omogentisinico non fosse un prodotto del metabolismo intermedio normale; egli ammise, che la trasformazione della tirosina avesse luogo attraverso l'acido *p*-idrossifenilpiruvico con successiva rottura dell'anello fenolico, secondo il seguente schema :



Si veniva ad ammettere per conseguenza, che l'acido omogentisinico si originerebbe per una serie di reazioni diverse dalle normali, e caratteristiche dell'organismo alcaptonurico. DAKIN basava però le sue conclusioni principalmente sul risultato negativo ottenuto nei tentativi di produrre alcaptonuria sperimentale nell'animale normale con introduzione di fenilalanina e di tirosina; ma vedremo come in seguito si siano avuti altri importanti dati sperimentali positivi, che tolgono ogni valore a quello negativo precedente.

Nel 1914 FROMHERZ ed HERMANNs pensarono, che la trasformazione della tirosina nell'organismo normale, seguisse indifferentemente due vie, e che solo quella attraverso i derivati idrochinonici passerebbe per lo stadio dell'acido omogentisinico; riportiamo uno schema, secondo la concezione di FROMHERZ ed HERMANNs :

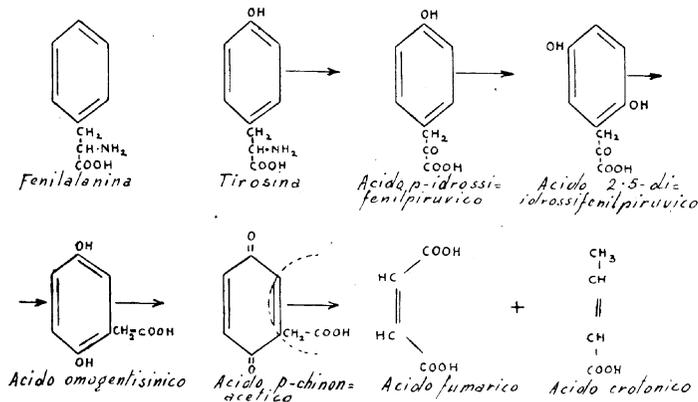


Da questo schema si comprende come nella concezione di FROMHERZ ed HERMANN'S il fenomeno dell'alcaptonuria non sarebbe un disturbo del totale metabolismo della tirosina, in quanto l'anomalia propria dell'organismo alcaptonurico, legata all'impossibilità di ossidare ulteriormente l'acido idrochinonacetico, interromperebbe a questa altezza la prima via, mentre per la seconda via non vi sarebbero ostacoli.

Ma oggi, anche se lievemente modificata in qualche suo particolare, domina la concezione di NEUBAUER (1928), che, in contrapposto alla teoria di DAKIN, sostiene che l'acido omogentisinico rappresenta una tappa del normale metabolismo della tirosina, e, in contrapposto alla teoria di FROMHERZ ed HERMANN'S, ammette che nell'alcaptonuria

L'anomalia del metabolismo della tirosina è totale, nel senso che l'acido omogentisinico è una tappa obbligata nel metabolismo della tirosina.

Le modificazioni nei processi del ricambio intermedio della fenilalanina e della tirosina in condizioni normali si possono dunque così riassumere secondo le più recenti vedute (MONASTERIO) :



L'acido crotonico si verrebbe a trasformare in acido  $\beta$ -ossibutirrico.

Le ricerche di questi ultimi anni sulla alcaptonuria sperimentale, e più ancora gli studi condotti sulla tirosinosi (MEDES) e sulla alcaptonuria stessa, hanno maggiormente convalidato la teoria di NEUBAUER ed hanno dimostrato come sicuro, che l'acido omogentisinico è una tappa intermedia nel normale metabolismo della tirosina.

Cosicchè fra i disturbi del ricambio degli aminoacidi aromatici (tirosinosi, alcaptonuria, oligofrenia fenilpiruvica), l'oligofrenia fenilpiruvica è una turba nel ricambio della fenilalanina; però non tutto il metabolismo della fenilalanina viene alterato in tale anomalia, giacchè resta normale la via attraverso la tirosina.

La tirosinosi e l'alcaptonuria invece sono un disturbo nel ricambio della fenilalanina e della tirosina; se il loro metabolismo si arresta alla prima tappa e precisamente fra l'acido p-idrossifenilpiruvico e l'acido 2:5 diidrossifenilpiruvico si ha la tirosinosi (MEDES), mentre l'arresto all'acido 2:5 diidrossifenilacetico, comunemente detto acido omogentisinico, produce quella anomalia del ricambio nota sotto il nome di alcaptonuria.

\* \* \*

Ammesso che l'alcaptonuria è un'anomalia del metabolismo degli aminoacidi aromatici, fenilalanina e tirosina, per cui le trasformazioni di questi si arrestano all'acido 2:5 diidrossifenilacetico, rimanendone

ostacolata l'ulteriore ossidazione, era necessario stabilire, in che cosa risiedesse la causa di tale disturbo.

BAUMANN e WOLKOW (1891) pensarono che l'acido omogentisinico si formasse nell'intestino per opera di speciali batteri; ma H. EMBDEN (1893), allievo dello stesso BAUMANN, disinfettando con diversi mezzi il canale intestinale di soggetti alcaptonurici, non riuscì ad influenzare la comparsa di acido omogentisinico nell'urina. La teoria di BAUMANN fu poi scossa completamente, quando si ottenne aumento dell'acido omogentisinico urinario, introducendo in un alcaptonurico la glicil-L-tirosina per via sottocutanea, in modo da evitare la via dell'intestino (ABDERHALDEN, BLOCH e RONA, 1907).

Del resto anche dalle ricerche di MITTELBACH (1901), che abbiamo più sopra ricordate, era rimasta infirmata la teoria di BAUMANN; il MITTELBACH infatti aveva potuto dimostrare, che l'acido omogentisinico non deriva soltanto dalle proteine ingerite con gli alimenti (acido omogentisinico esogeno), ma anche da quelle cellulari (acido omogentisinico endogeno). Infine non fu mai riscontrato acido omogentisinico nelle feci degli alcaptonurici, come avrebbe comportato la teoria di BAUMANN.

GROSS (1914), avendo osservato che l'acido omogentisinico è distrutto dal siero di sangue a 37° C., senza tuttavia scomparire completamente, mentre il siero riscaldato a 56°-60° C. diviene inattivo, emise l'ipotesi, che nel siero normale esistesse un fermento capace di scindere l'acido omogentisinico; KATSCH e STERN (1926) pensarono, che questo fermento mancasse nel sangue dei soggetti alcaptonurici.

BROcq-ROUSSEAU e ROUSSEL (1939) fanno notare che, mescolando l'acido omogentisinico in soluzione acquosa o in soluzione fisiologica a siero di individuo normale, si ottiene diminuzione nella quantità dell'acido a causa della sua unione con le sostanze proteiche del siero; tale diminuzione oscilla fra il 4% ed il 10% dell'acido aggiunto, e non si ha ulteriore diminuzione quando il miscuglio viene lasciato per una giornata in stufa. Aggiungendo al siero dell'acido omogentisinico in condizioni adatte per evitare variazioni del pH del siero, si osserva ugualmente una diminuzione dell'acido omogentisinico, dovuta all'ossigeno dell'aria, in un mezzo debolmente alcalino. Per cui l'ipotesi di Gross, che ammetteva l'esistenza di un fermento ossidante l'acido omogentisinico nel siero normale, non può essere sostenuta.

KATSCH e METZ (1927) pensarono, che nel siero degli alcaptonurici esistesse un corpo atto ad impedire l'ossidazione dell'acido omogentisinico; tale corpo, secondo FRANZ e LIEB (1929), si deve ritenere essere di natura proteica, visto che non si ritrova più nel filtrato del siero dealbuminizzato. Ma anche tale ipotesi non riscuote consensi, anzi da alcuni viene addirittura scartata (BROcq-ROUSSEAU e ROUSSEL).

C'è chi ha richiamato l'attenzione sull'importanza che può avere

la deficienza funzionale di determinati organi: LAHILLE (1918) comunicò un caso di alcaptonuria in un soldato, che aveva dolori lombari, e manifestò l'opinione che l'acido omogentisinico si potesse formare nel rene alterato. Tale teoria però viene a cadere, perchè non si sono avuti reperti di alterazione renale in altri casi, e specialmente per il fatto che l'acido omogentisinico si trova nel sangue circolante (ABDERHALDEN, KATSCH e METZ), giustificando il noto fenomeno dell'ocronosi.

Maggior favore ha incontrato invece l'opinione di coloro, che pensano piuttosto ad un difetto funzionale del fegato, in quanto è risaputo, che appunto al fegato è devoluta in massima parte la regolazione del metabolismo proteico. La suddetta opinione trova fondamento nel fatto, che in alcuni casi di alcaptonuria era presente una lesione epatica (HÜRTHE, 1930; SCHIAPPOLI, 1938). Recentemente PAGET e VALDIGUÉ (1941), descrivendo un caso di alcaptonuria, in cui esisteva insufficienza epatica, così concludono: « Faut-il établir obligatoirement relation de cause à effet entre cette insuffisance glandulaire et son trouble métabolique? Il sera illogique de le contester. Le foie est certainement responsable de l'affection bénigne, dont nous avons essayé d'enrichir l'histoire chimique et biologique. Un étude des cas décelables ultérieurement calqués sur le plan de la nôtre en éclaircira la patogénie ».

\* \* \*

L'alcaptonuria non è una malattia propria dell'uomo; essa è stata riscontrata anche negli animali, e fu il primo LEWIS (1926) che la osservò in un coniglio, il quale era stato utilizzato per esperienze sull'immunità: l'animale non mostrava alcun'altra alterazione degna di menzione. GERARDI riferisce, che casi di alcaptonuria negli animali, furono anche riscontrati da MEYER e WOLF. Ma secondo SCIMEX e INGIER l'alcaptonuria degli animali non avrebbe nulla in comune con quella umana.

I tentativi per poter riprodurre l'alcaptonuria sperimentalmente negli animali risalgono a molti anni fa; e fu il DAKIN, che per primo affrontò tale problema somministrando ad animali fenilalanina e tirosina. Precisamente nelle sue esperienze DAKIN (1909), iniettò da 6 a 8 g di fenilalanina nel gatto, e successivamente (1916) saggio, pure sul gatto, uguale quantità di tirosina; non ebbe però mai eliminazione di acido omogentisinico con l'urina.

I tentativi furono ripresi da ABDERHALDEN (1912) su cani e conigli, ma sempre con esito negativo.

Tuttavia si deve allo stesso ABDERHALDEN (1912) la prima riproduzione sperimentale dell'alcaptonuria in un soggetto umano, sommini-

strando per via orale g 50 di tirosina: la quantità di acido omogentisinico eliminata con l'urina fu minima (g 0,5 di omogentisinato di piombo); la purezza del sale di piombo fu accertata determinando il suo punto di fusione e con l'analisi elementare.

Ma tale esperimento di ABDERHALDEN rimase isolato; e, pur avendo lo stesso A. ripetuto in seguito la prova su altri soggetti, non riuscì più a riprodurre l'alcaptonuria, nemmeno quando somministrò una dose di g 150 di tirosina, cioè tre volte superiore a quella, che nel primo esperimento aveva dato positivo.

A provocare l'alcaptonuria sperimentale negli animali si è riusciti solo recentemente. PAPAGEORGE e LEWIS (1938), somministrando per via orale fenilalanina a ratti quotidianamente in dose superiore a g 3 per Kg di peso corporeo, ottennero dopo 2 a 28 giorni eliminazione di acido omogentisinico con l'urina: l'alcaptonuria scompariva non appena si interrompeva la somministrazione dell'aminoacido. Successivamente (FÖLLING e CLOSS, 1938) si è visto che, somministrando per via orale a ratti fenilalanina sciolta in idrato di sodio, la produzione dell'alcaptonuria era molto più pronta: anzi, se la fenilalanina, sciolta in soluzione alcalina, veniva iniettata sottocute (CLOSS e BRAATEN, 1941) bastavano dosi piccole dell'aminoacido per avere eliminazione di acido omogentisinico.

Anche la tirosina, sciolta in idrato di sodio ed iniettata sottocute al ratto porta ad eliminazione di acido omogentisinico (CLOSS e BRAATEN). Tale tecnica però è poco adatta allo scopo, mostrandosi la soluzione consigliata capace di produrre vaste zone di necrosi nel punto di iniezione.

Nel R. Istituto di Chimica Biologica di Roma abbiamo pensato di servirci della via peritoneale, da nessun autore sfruttata, e nei ratti abbiamo ottenuto l'alcaptonuria con la introduzione endoperitoneale di tirosina o di fenilalanina.

LANYAR (1942) afferma di essere riuscito ad ottenere l'alcaptonuria sperimentale anche nel topolino con somministrazione di fenilalanina e tirosina a forti dosi, per via orale.

Un tentativo fatto da PAPAGEORGE e LEWIS per riprodurre l'alcaptonuria nel coniglio, con somministrazione per via orale di fenilalanina, fallì, forse per il fatto che, data la dose elevata che bisognava fare ingerire, non fu possibile prolungare la somministrazione per un tempo sufficiente.

Recentemente (SEALOCK e SILBERSTEIN, 1939) hanno ottenuto con somministrazione orale di tirosina l'alcaptonuria nella cavia tenuta in condizioni di lieve avitaminosi C.

\* \* \*

KATSCH aveva potuto osservare in un alcaptonurico che, sottraendo dalla alimentazione gli idrati di carbonio, si notava una diminuzione nella eliminazione dell'acido omogentisinico, il quale finiva per scomparire, quando la sottrazione degli idrati di carbonio si prolungava per parecchi giorni. Negli infermi sottoposti a tale dieta, si verificava una evidente acidosi, per cui si pensò che i benefici della dieta acarboidrata e chetogena fossero dovuti all'acidosi che provocava, come per un'azione che i corpi chetonici spiegassero agevolante la scissione dell'acido omogentisinico.

Le ricerche di KATSCH furono confermate, e MATEJKA, THANNHAUSER, HACH ed altri notarono ugualmente diminuzione nella eliminazione dell'acido omogentisinico, sottoponendo un alcaptonurico ad un regime povero di idrati di carbonio, per cui credettero di indicare la dieta chetogena come rimedio curativo dell'alcaptonuria.

Successivamente, però, altri ricercatori non sono riusciti a confermare le ricerche di KATSCH; infatti LANYAR e LIEB (1926), BAUER e KIENBÖCK e DIAZ, sottoponendo gli alcaptonurici ad una intensa dieta chetogena, non riuscirono ad osservare diminuzione della eliminazione dell'acido omogentisinico.

Ma a fare scartare l'idea, che fosse l'acidosi a provocare la diminuita eliminazione di acido omogentisinico nelle esperienze di KATSCH, vennero le ricerche di HÜRTHLE, che provocò in un alcaptonurico una forte acidosi per mezzo del cloruro di ammonio senza limitare l'ingestione di idrati di carbonio: HÜRTHLE non osservò nelle sue ricerche modificazione della quantità di acido omogentisinico eliminato. Ne veniva di conseguenza, che i vantaggi terapeutici ottenuti con la dieta povera di idrati di carbonio non potevano dipendere dalla acidosi, e si era piuttosto indotti a sospettare, che fossero direttamente in rapporto con la deficienza stessa dei carboidrati.

Il meccanismo di tale rapporto ci è ancora sconosciuto. Anche le ricerche di GAVEZZENI e BESOZZI, che hanno cercato di modificare la diminuita eliminazione di acido omogentisinico da dieta acarboidrata con iniezioni di insulina o di tiroxina, sono state del tutto negative.

\* \* \*

Il più delle volte l'alcaptonuria è una malattia congenita, che si rivela fin dall'infanzia.

Tuttavia sono noti casi, invero molto rari, in cui l'alcaptonuria si è manifestata come fenomeno transitorio e passeggero, il che si è verificato di solito nel corso di altre malattie.

Come esempi di alcaptonuria transitoria, sono da citare i casi di BOEDEKER e di GEYGER in diabetico, di HIRSCH in bambino con gastroenterite, di MORACZEWSKI e di GEBHARDT in tubercolosi grave, di SLOSSE in soggetto con affezione dello stomaco, i due casi di ZIMNICKI, ed il caso di SCHIAPPOLI in infermo con angiocolite suppurata; è da ricordare ancora il caso di STANGE, in cui l'anomalia comparve in modo intermittente.

SANTOS dice che nella forma transitoria sarebbe giusto ammettere un possibile intervento di «fattori alcaptonogeni interni» rappresentati in buona parte da alterazioni specifiche di tipo funzionale del protoplasma epatico.

Nel caso di SCHIAPPOLI si trattò di un infermo di angiocolite suppurata, che presentò per tre giorni durante la malattia una alcaptonuria transitoria, che coincise con l'inizio di un periodo di disfunzione epatica più acuto. L'A. dice che nell'alcaptonuria transitoria «è quasi sempre evidente una causa morbosa, che abbia indotto una lesione generica del fegato, di cui l'alcaptonuria non è che un sintomo».

L'alcaptonuria transitoria si è verificata di solito in soggetti affetti da malattie gravi terminate spesso con la morte; ma non per questo bisogna interpretare l'alcaptonuria come un sintomo di lesione irreversibile del fegato, giacchè in molti casi l'alcaptonuria è scomparsa, allorchè guariva la malattia che ne era stata la causa (SCHIAPPOLI).

\* \* \*

L'alcaptonuria è una malattia relativamente rara: nel 1908 FROMHERZ ne raccoglieva e segnalava 58 casi; nel 1924 PIETER 112; nel 1932 HOGGEN, WORALL e ZIEVE riuscivano a raccogliere in tutto 151 casi. L'alcaptonuria è certamente molto più frequente di quanto ci dicano queste cifre, giacchè spessissimo l'anomalia rimane sconosciuta non provocando alcun disturbo. Del resto FROMHERZ, ordinando i 58 casi da lui raccolti, poteva constatare che di essi ben 45 si riferivano agli anni 1892-1907, cioè al periodo in cui l'argomento fu particolarmente studiato.

GARROD (1902) fu il primo a studiare l'ereditarietà di tale anomalia. Dalle sue indagini concluse, che l'alcaptonuria è una malattia congenita a carattere familiare, riscontrandosi con maggiore frequenza presente in due o più fratelli, anzichè in un solo individuo; rilevò inoltre, che i genitori di un alcaptonurico sono nel maggior numero dei casi consanguinei: che talora essi stessi presentano tale disturbo; e che infine l'alcaptonuria si osserva più frequentemente negli uomini che nelle donne.

È opportuno qui ricordare che, con queste ricerche sulla ereditarietà della alcaptonuria, il GARROD fu il primo a dimostrare la possibilità della applicazione nella genetica umana delle leggi di MENDEL.

Le idee di GARROD furono convalidate successivamente da altri AA. FROMHERZ infatti aveva notato, che fra i 58 casi da lui messi insieme, 30 appartenevano a 12 famiglie; e successivamente, insieme a GARROD, osservò che solo 13 erano donne.

Uno studio in questo senso fu pure fatto da HOBGEN, WORALL e ZIEVE (1932) sui 151 casi da loro messi insieme. Risultò che, nel maggior numero dei casi, la malattia si osservava in più membri della stessa famiglia con una frequenza del 56%; nella maggioranza si trattava di fratelli. I genitori di tali fratelli alcaptonurici risultarono consanguinei nel 43%, cioè in una fortissima percentuale; in sette casi, fra quelli in cui la malattia si presentò in due o più fratelli, si notò l'alcaptonuria in uno dei genitori. Ma la trasmissione diretta non è la regola per l'alcaptonuria; e TOENISSEN ha chiaramente dimostrato, che la trasmissione avviene ordinariamente secondo la legge dei caratteri recessivi di Mendel.

Degno di menzione è il caso di DEBENEDETTI, che, in sei fratelli (quattro maschi e due femmine), notò l'alcaptonuria in tutti e quattro i maschi; i genitori erano consanguinei.

Esistono però anche osservazioni, che dimostrerebbero una eredità diretta del fenomeno dell'alcaptonuria; così per es. PIETER potette seguire l'ereditarietà dell'alcaptonuria per ben quattro generazioni di un ceppo familiare, e dimostrare in questo caso come la trasmissione ereditaria del fenomeno morboso seguiva le leggi mendeliane della dominanza. Esisterebbero quindi casi di alcaptonuria trasmessi geneticamente secondo il tipo recessivo semplice, e casi trasmessi secondo il tipo dominante, senza alcuna differenza clinica fra le due forme.

Non mancano infine osservazioni di casi sporadici di alcaptonuria.

Sono molto interessanti a tal proposito i dati forniti da SEABORN, per il gran numero di soggetti esaminati. Infatti presentatosi a lui un caso di alcaptonuria con ocronosi, poté esaminare le urine di 135 discendenti in linea diretta, e di 75 discendenti dei cugini del paziente: per tutti il risultato fu negativo.

L'acido omogentisinico è stato riscontrato, oltre che nell'urina, anche nel sangue (ABDERHALDEN, BLOCH e RONA, LANYAR e LIEB). Ma molti AA., che l'hanno pure ricercato nel sangue, non sono riusciti a metterlo in evidenza. Si può pensare, che l'alcaptone venga eliminato continuamente dai reni, e che non sempre si riesca a sorprenderlo nel sangue in concentrazione tale, da poterne svelare la presenza coi metodi di indagine di cui si dispone.

LANYAR e LIEB l'hanno messo in evidenza anche nel latte di una al-

captonurica, e HALLIBURTON (1899) ha riscontrato l'alcaptone anche nel liquido cerebro-spinale in un caso di alcaptonuria.

Negativa è riuscita la ricerca dell'acido omogentisinico nel sudore (GARROD), per quanto in un caso questo apparve di un colorito bruno-scuro.

Le feci dell'alcaptonurico non contengono acido omogentisinico.

La quantità di acido omogentisinico eliminata con l'urina varia da 3 a 5 g nelle 24 ore. In rari casi sono stati trovati valori più alti, fino a g 7 (LANGSTEIN e MEYER), a g 14 (ZIMPER, ULHOA CINTRA), a g 16 (GROSS e ALLARD), a g 16,80 (SCHUMM), e perfino g 25 da UMBER dopo abbondante pasto carneo.

\* \* \*

I soggetti affetti da alcaptonuria, eliminano urina che, resa alcalina o divenuta tale per fermentazione ammoniacale, imbrunisce all'aria per assorbimento di ossigeno; tale proprietà non è specifica dell'acido omogentisinico, in quanto denuncia presenza di ossifenoli.

L'urina alcaptonurica riduce l'ossido di rame in soluzione alcalina, presentando quindi positive le reazioni di Trommer e di Fehling; tali reazioni sono molto intense, da 9 a 10 volte più che nel caso di una urina contenente uguale quantità di glucosio (DENIGÈS); ma recentemente PAGET e VALDIGUÉ (1941) non hanno trovato tale forte differenza fra il potere riduttore dello zucchero e quello dell'acido omogentisinico, che per loro è solo di poco più intenso.

L'urina alcaptonurica non dà la reazione di Böttger e di Nylander, cioè non riduce il sottonitrato di bismuto in ambiente alcalino; ed oltre che per queste reazioni, si differenzia dall'urina glicosurica in quanto è otticamente inattiva e non fermenta.

Col reattivo di Millon si ha una colorazione gialla fino al giallo arancio, che diviene rossa col riscaldamento; la soluzione ammoniacale di un sale di argento viene ridotta a freddo; mettendo a contatto l'urina alcaptonurica con una soluzione diluita di percloruro di ferro (anche fino 1:4000) compare una fugace reazione bleu-verde.

Una prova molto sensibile è quella che si esegue versando l'etere, che era stato a contatto con l'urina alcaptonurica, su un pezzo di calce viva, si ha un colorito bleu più o meno fugace, da cui residua una macchia giallastra bruno chiara (KATSCH e NEMET).

Molti sono stati i metodi usati per la determinazione dell'acido omogentisinico, ma pochi ci danno sicurezza di precisione.

Vi è il metodo argentimetrico di BAUMANN, che dosa l'acido omogentisinico con nitrato di argento, e la modificazione data da DENIGÈS, che ossida l'alcaptone con soluzione di nitrato di argento in eccesso e titola l'argento non ridotto.

Un metodo colorimetrico di dosaggio dell'acido omogentisinico ha proposto BRIGGS, basandolo sulla proprietà che ha l'acido fosfomolibdico di assumere una intensa colorazione verde — in ambiente acido — quando è ridotto dall'idrochinone. Poichè riduzione analoga può essere data dall'acido omogentisinico, questo può dosarsi colorimetricamente, comparando la intensità della colorazione verde da esso indotta con quella di una soluzione campione, nella quale sia stata aggiunta una nota determinata quantità di idrochinone.

Col metodo iodimetrico di METZ e LIEB si ossida l'acido omogentisinico con iodio, in presenza di bicarbonato di sodio; poichè tale reazione è reversibile per aggiunta di acido solforico, l'iodio che si viene a liberare può essere titolato con tiosolfato.

Un metodo di molta precisione, che ha inoltre il vantaggio di poter essere utilizzato per piccolissime quantità di urina, è quello proposto recentemente da FIGURA. Il principio del metodo è il seguente: l'alcaptone, in ambiente alcalino riduce il nitrato di argento ad ossido di argento, che insolubile precipita; il precipitato raccolto e lavato con opportuna tecnica, viene ritrasformato, mediante l'aggiunta di acido nitrico concentrato, in nitrato di argento, che come tale si titola con una soluzione N/10 di solfocianato di ammonio o di potassio, adoperando come indicatore l'allume ferrico ammoniacale.

Per la identificazione dell'acido omogentisinico sono molto utili i metodi di cristallizzazione dell'acido omogentisinico sotto forma di etere etilico dell'acido omogentisinico (SCHUMM), di omogentisinato di piombo (GARROD, 1898), di benzoil-omogentisamide (ORTON e GARROD, 1901), ovvero e meglio ancora sotto forma di acido omogentisinico puro. Questi cristalli si identificano dal loro punto di fusione, che corrisponde a 119°-120° C per l'etere etilico dell'acido omogentisinico, a 214° C per l'omogentisinato di piombo, a 204° C per la di-benzoil-omogentisamide, e a 147° C per i cristalli di acido omogentisinico puro.

Il metodo proposto per la determinazione dell'acido omogentisinico nel sangue è quello di KASCH e METZ, modificato da LANYAR e LIEB, in cui le proteine vengono precipitate con tungstato di sodio ed acido solforico, ed il filtrato viene trattato con acido fosfotungstico e borace. Il colore bleu è paragonabile con quello di una soluzione *standard* di acido omogentisinico ugualmente trattata.

L'acido omogentisinico è cristallizzabile in prismi, che fondono a 147° C; è facilmente solubile in acqua, alcool ed etere; insolubile in cloroformio, benzolo, etere di petrolio; è otticamente inattivo. Si può preparare anche sinteticamente.

\* \* \*

Spesso l'alcaptonuria non dà alcun sintomo, e la malattia è messa in evidenza per un causale esame di urina; questi sono i casi più fre-

quenti. Talora il malato ricorre al medico preoccupato per l'imbrunimento delle urine, che si avvera qualche tempo dopo che sono state emesse.

Nei bambini l'alcaptonuria è sovente rilevata dalla madre, quando osserva, che i panni assumono un colore scuro, che si rinforza lavandoli con sapone.

L'imbrunimento dell'urina all'aria è il sintomo caratteristico, e resta spesso l'unico di tale disturbo.

Un sintomo subiettivo molto frequente è la disuria ed il bruciore alla minzione, dovuto alla irritazione determinata lungo le vie urinarie dal passaggio dell'acido omogentisinico. EMBDEN riuscì a riprodurre tale sintomo ingerendo una forte quantità di acido omogentisinico.

Ma tale anomalia del ricambio non verrebbe ad essere denunciata, se gli alcaptonurici che raggiungono la media età non andassero incontro con una certa frequenza all'ocronosi, che consiste in un annerimento dapprima del tessuto cartilagineo e poi delle parti molli, specialmente nei vari tessuti peri- e para-articolari.

Fu il VIRCHOW (1866) a notare in un cadavere, che il tessuto cartilagineo e il connettivo articolare avevano acquistato un colorito giallo fino al giallo-bruno, onde il nome di ocronosi (da  $\omega\chi\rho\acute{o}\varsigma$  = giallo), che egli diede a tale alterazione.

ALBRECHT e ZDAREK (1902) emisero l'ipotesi, che l'ocronosi fosse in rapporto con l'alcaptonuria, in quanto essi notarono un chiaro caso di ocronosi nel corso di una alcaptonuria.

Ma si deve a GROSS e ALLARD (1907) l'aver dimostrato in modo sicuro il rapporto esistente fra ocronosi ed alcaptonuria; tali AA. infatti poterono dimostrare sperimentalmente, come, immergendo in una soluzione anche debole di acido omogentisinico delle cartilagini, queste assumevano un colore bruno, mentre il liquido rimaneva incolore.

Oggi si sa che l'ocronosi è in rapporto con la comparsa di un pigmento privo di ferro, che appartiene al gruppo delle melanine.

Si deve pertanto pensare, che l'acido omogentisinico ha la possibilità di ossidarsi e condensarsi a sostanza melanica nei tessuti, dando la colorazione bruna caratteristica dell'ocronosi.

GIBSON e HOWARD su 70 casi di alcaptonuria, hanno trovato l'ocronosi 24 volte.

Il pigmento si localizza nel tessuto cartilagineo e fibro-cartilagineo, nelle capsule articolari, nei tendini e legamenti, nel periostio, nella sclerotica oculare, nell'endocardio, nell'intima dell'aorta, nei reni (epitelio dei tubuli contorti), nel tessuto grasso e muscolare, ecc. Dove la cute (che talora può anche presentarsi iperpigmentata) è molto sottile, si può osservare dall'esterno il colorito bruno; così in corrispondenza

del padiglione dell'orecchio, delle pinne nasali, talora sfumature alle guance, al letto ungueale. La sostanza può essere eliminata attraverso le ghiandole sebacee; per questo le regioni ascellari possono apparire di colorito blen-verdastro; anche il cerume può apparire nerastro.

Ma l'ocronosi può esistere anche senza alcaptonuria, e furono per primi LANGSTEIN (1904) e PICK (1906) a notarle. OPPENHEIMER e KLINE hanno descritto un caso di ocronosi, in cui veniva eliminata con l'urina una sostanza melanica e non l'acido omogentisinico.

Ma col passare degli anni, il pigmento — dopo di essersi depositato nel sistema osteoarticolare — finisce per alterarne i tessuti, con produzione di un'osteoartrite deformante; l'artrite ocronotica o alcaptonurica rientra quindi nel gruppo delle artriti secondarie da disturbo del ricambio come l'artrite gottosa (BAZZICALUPO).

È verosimile — come affermano DOMINICI e RONDONI — che i dolori reumatoidi, che taluno ha registrato anche in alcaptonurici non gravi e senza ocronosi apparente, siano da ricondursi ad un lieve stato di iniziale infiltrazione articolare per parte del pigmento alcaptonico.

Pertanto il tessuto cartilagineo impregnato dalla sostanza melanica perde la sua elasticità, diviene ruvido, si sfiabilla. Per tale perdita di elasticità ed a causa degli stessi movimenti si avverano delle screpolature e delle rotture, cosicchè piccoli tratti di cartilagine vengono a staccarsi. Si verificano quindi proliferazioni nei tessuti circostanti, per cui si avverano modificazioni nella forma della articolazione stessa, che assume l'aspetto dell'osteoartrite deformante (LANDOIS e UEBERMUTH). Le più colpite sono le grandi articolazioni del ginocchio, dell'anca, della spalla, e frequentemente quelle della colonna vertebrale, con produzione di una spondilosi deformante.

Il tessuto osseo, specie in vicinanza delle articolazioni presenta anch'esso delle alterazioni, consistenti in ispessimenti più o meno diffusi della corticale ed in focolai di osteoporosi. Così SÖDERBERG parla di osteite deformante ocronotica, mentre HECKER, WOLF e PUHR riportano casi di ocronosi con focolai osteoporotici, che BAUER e KIENBÖK descrivono anche a carico della diafisi femorale. Si comprende bene come tali lesioni osteoporotiche possano diminuire la resistenza ossea ed essere causa di frattura patologica (UEBERMUTH). Lo stesso BAUER così illustra il reperto radiologico di un caso di ocronosi, venuto alla sua osservazione: « Alla radiografia si osservano nel ginocchio le alterazioni caratteristiche dell'artrosi deformante, ma anche più interessanti sono le zone di rarefazione della spugnosa del femore, di forma rotondeggiante, della grandezza al massimo di una ciliegia, a limiti netti, in parte confluenti che non sorpassano mai i limiti della corticale e non danno luogo a reazione periosteale. Simili zone si osservano anche in alcuni corpi vertebrali ».

L'ocronosi è stata descritta pure negli animali, ma secondo POULSEN essa si differenzia dall'ocronosi umana per la diversa localizzazione e per la diversa natura dei pigmenti depositati, trattandosi di emosiderina o di altra sostanza colorata derivata da trasformazioni del pigmento ematico.

\* \* \*

La diagnosi di alcaptonuria, come abbiamo detto, di solito è casuale. Essa si basa sulla dimostrazione dell'acido omogentisinico nelle urine.

Per la diagnosi di ocronosi e di artrite alcaptonurica si terrà conto dei sintomi sopra descritti, oltre che della dimostrazione dell'acido omogentisinico nelle urine, quando esiste. Certo che, se viene a mancare l'eliminazione dell'acido omogentisinico con l'urina, la diagnosi di osteo-artrite alcaptonurica, si deve basare sulla ocronosi concomitante; in caso contrario, la diagnosi può essere sospettata, solo quando si nota alcaptonuria in un membro della famiglia dell'infermo venuto alla nostra osservazione.

L'imbrunimento delle urine in ambiente alcalino ed esposte all'aria, non è caratteristico dell'alcaptonuria. Infatti l'urina può imbrunire in seguito all'ingestione di medicinali che si trasformano in ossifenoli nell'organismo, quali il fenolo, la resorcina; in tali casi però con l'aggiunta del percloruro di ferro si ha un colorito azzurro-violetto, e col reattivo di Millon un colorito rosso scuro. Nell'intossicazione fenolica si può avere anche annerimento delle cartilagini, come nell'alcaptonuria (PICK, HERMANN); si parlerà in questi casi di ocronosi fenolica; ma nell'ocronosi fenolica non si sono mai verificate lesioni artritiche.

L'urina alcaptonurica potrebbe essere erroneamente considerata come un'urina diabetica, da chi fondasse il giudizio sul risultato positivo della prova cupro-potassica di Trommer, comune alle due qualità di urina; ma è stato già detto avanti, che, nel caso di urina alcaptonurica dà risultato negativo la prova di Nylander, nonchè quella della fermentazione alcoolica e quella polarimetrica.

Bisogna prendere in considerazione anche la melanuria dei tumori melanotici, in quanto anche in questo caso l'urina annerisce all'aria ed in presenza di ossidanti; ma la sostanza melanotica, con l'aggiunta di percloruro di ferro, dà un colore scuro e con l'aggiunta di acido nitrico concentrato si decolora; presenta inoltre le reazioni proprie della melanina (metodo di Helman, metodo di Thormählen).

Dalle urine contenenti pigmenti biliari, sangue o emoglobina, l'urina alcaptonurica si differenzia con le reazioni tipiche per le singole sostanze.

Non è possibile confondere l'ocronosi con il morbo di Addison; in quest'ultima malattia manca ogni eliminazione di pigmento melanotico per le urine, e d'altra parte invece si riscontrano pigmentazione bruna delle mucose, ipotensione arteriosa, ed inoltre i vari sintomi addominali (crisi solari, disturbi dell'apparato digerente, ecc.), fenomeni tutti che mancano nella ocronosi.

\* \* \*

La prognosi *quoad vitam* è buona; ugualmente la prognosi *quoad valetudinem et quoad functionem*, finchè non si sia manifestata l'ocronosi e l'artrite deformante.

La malattia è sempre progressiva, e l'ocronosi e l'osteo-artrite deformante, quando si sono formate, non hanno la possibilità di regressione.

Si deve prendere in considerazione il fatto, che talora nell'alcaptonuria si può avere risentimento dello stato generale, con diminuzione dei poteri di difesa dell'organismo (GARROD e ALLARD), per cui gli infermi mostrano spiccata tendenza a contrarre malattie infettive (MATEJKA).

\* \* \*

Poco possiamo dire della cura dell'alcaptonuria: allo scopo di ridurre al minimo possibile la quota di acido omogentisinico di origine esogena si è consigliato di ridurre al minimo la quota proteica dell'alimentazione (g 0,7-0,9 di proteine pro chilo peso corporeo). Specialmente le proteine molto ricche di tirosina e fenilalanina debbono essere scartate dall'alimentazione; è perciò da proibire l'uso del latte e dei latticini, essendo la caseina una delle proteine più ricche di tirosina.

Era stata consigliata anche una alimentazione a scarso contenuto di idrati di carbonio (KATSCH, MATEJKA, THANNHAUSER, HACH), ma i risultati non sono concordi; così l'iniezione di insulina (GAVEZZENI e BEZZOZZI) non ha recato alcun vantaggio.

KLEIN e BLOCH (1937) hanno ottenuto forte riduzione dell'alcaptonuria con l'uso di estratti epatici, ma successive ricerche non hanno confermato le vedute di tali AA. (MOSONYI, DIAZ, RUIZ).

Trova indicazione la terapia a base di vitamina C proposta da MOSONYI (1939), che è riuscito ad ottenere con tale trattamento un netto miglioramento di un alcaptonurico; l'efficacia della vitamina C si è dimostrata in due recidive manifestatesi successivamente. Ma altri AA. (DIAZ, RUIZ), che hanno tentato tale terapia, affermano di non aver ottenuto alcun beneficio.

Nelle forme osteo-articolari alcaptonuriche, è stata consigliata la proteino-terapia aspecifica da BAAR e FREUD, ma anche con questa terapia i risultati non sono stati brillanti.

Si possono in questa forma morbosa consigliare i vari trattamenti fisioterapici più in uso per le comuni forme di reumatismo cronico.

In tutti i casi è sempre bene attivare la diuresi con forti quantità di acque, preferibilmente acque oligo-minerali, allo scopo di favorire *l'eliminazione dell'alcaptone e per conseguenza* il deposito nei tessuti.

#### S O M M A R I I

SOMMARIO. — Definizione. - Cenni storici. - Natura dell'alcaptone. - Metabolismo della fenilalanina e della tirosina. - L'acido omogentisinico, tappa intermedia del normale metabolismo della tirosina. - L'acido omogentisinico nell'urina e nel sangue. - Turbe del ricambio degli aminoacidi aromatici: alcaptonuria, tirosinosi, oligofrenia fenilpiruvica. - Ereditarietà. - Patogenesi dell'alcaptonuria. - Alcaptonuria sperimentale. - Sintomatologia: presenza dell'acido omogentisinico nell'urina e deposito nei tessuti. - Metodi di esame per la ricerca dell'acido omogentisinico. - Ocronosi ed artrite ocronotica; reperti anatomico-patologici e radiologici. - Diagnosi. - Prognosi. - Terapia. - Bibliografia.

INHALT. — Definition. - Geschichtliches. - Das Wesen des Alkaptons. - Stoffwechsel des Phenylalanins und Tyrosins. Die Homogentisinsäure im Harn und im Blut. - Stoffwechselstörungen der aromatischen Aminosäuren: Alkaptonurie, Tyrosinose und phenylpiruvische Oligophrenie. - Vererbung. - Pathogenese. - Experimentelle Alkaptonurie. - Symptomatologie. - Anwesenheit der Homogentisinsäure im Blut und Ablagerung in den Geweben. - Untersuchungsmethoden zum Nachweis der Homogentisinsäure. - Ochronose und ochronotische Arthritis: Patholog.-anatomische und röntgenologische Befunde. - Diagnose. - Prognose. - Behandlung. - Literatur.

SOMMAIRE. — Definition. - Notices historiques. - Nature de l'alcapton. - Métabolisme de la phenylalanine et de la tyrosine. - L'acide homogentisinique, étape intermédiaire du normal métabolisme de la tyrosine. Altérations du métabolisme des aminoacides aromatiques: alcaptonurie, tyrosinose et oligophrenie phenylpiruvica. - Héritéité de l'altération. - Théories pathogéniques. - Alcaptonurie expérimentale. - Symptomatologie: présence de l'acide homogentisinique dans l'urine et dépôt dans les tissus. - Méthodes d'examen pour la recherche de l'acide homogentisinique. - Ochronose et arthrite ochronotique: rapports anatomo-pathologiques et radiologiques. - Diagnose. - Prognose. - Traitement. - Bibliographie.

SUMMARY. — Definition. - History. - The nature of alkapton. - The intermediary metabolism of tyrosine and phenylalanine. - Omogentisinic acid in urine and in the blood. - Errors in the metabolism of the aromatic amino-acid: alkaptonuria, tyrosinosis, and oligophrenia phenylpiruvica. - Hereditarity-Pathogenesis. - Experimental alkaptonuria. - Sintoms: the presence of omogentisinic acid in the urine and its deposit in the tissues. - Various methods for the discovery of omogentisinic acid. - Ochronosis and ochronotic artritis: pathology-anatomy and radiology. - Diagnosis. - Therapy. - Bibliography.

#### B I B L I O G R A F I A

ABDERHALDEN E.: Zeitschrift f. phys. Chem., 77, 454, 1912. — ABDERHALDEN E., BLOCH B. u. RONA P.: Z. phys. Chem., 52, 435, 1907. — ABDERHALDEN E. u. FALTA W.: Z. phys. Chem., 39, 143, 1903. — ADLER O.: Bioch. Z., 21, 5, 1909. — ALBRECHT u. ZDAREK: Z.

- Heilk., 23, 366. — BAAR H. u. FREUD P.: Klin., Woch., 4, 2388, 1925. — BALLOWITZ K.: J. Kinderheilk., 133, 182, 1932. — BAMBERGER: Ber. dtseh. chem. Ges., 28, 245, 1895. — BAUMANN E.: Z. phys. Chem., 16, 268, 1891. — BAUMANN E. u. FRAENKEL S.: Z. phys. Chem., 20, 219, 1895. — BAUMANN E. u. WOLKOW M.: Z. phys. Chem., 15, 228, 1891. — BAUER u. KIENBOECK: Fortschr. Roentgenstr., 30, 32, 1929. — BAZZICALUPO: Gazz. Int. Med. e Chir., 1, 1, 1937. — BERTEL R.: Ber. dtseh. botan. Ges., 20, 454, 1902. — BLATHERNICK N. R.: J. Amer. Med. Ass., 103, 1933. — BODANSKY M. P. D.: Intr. Physiol. Chem., 1934. — BODECKER C.: Z. f. rat. Med., 7, 138, 1859. — IDEM: Lieb. Ann., 117, 98, 1861. — BROCC-ROUSSEAU D. et RUSSEL G.: Le serum normal, 1939. — BUTTS J. S., DUNN M. S. and HALLMAN L. F.: J. Biol. Chem., 123, 711, 1938. — CASSATA: Riv. Sci. Sicil., 22, 203, 1934. — CLOSS K. u. BRAATEN K.: Z. phys. Chem., 271, 221, 1941. — CZAPPE F.: Ber. d. dtseh. botan. Ges., 20, 1902. — CUTHBERT C. F.: Lancet, 573, 1923. — D'AGATA A.: Arch. Sc. Biol., 1942. — DAKIN H. D.: J. Biol. Chem., 6, 235, 1909; 8, 11, 1910. — DAKIN u. WAKEMANN: Journ. of biol. Chem., 9, 139, 1911. — DE BENEDETTI E.: Policl., (Sez. prat.), 27, 1379, 1920. — DENIGES S.: Journ. de Pharm. et Chim., 5, 50, 1897. — DIAZ J., MENDOZA C. et RODRIGUEZ S.: Med. exp., 1939. — DOMINICI G.: in CECONI: Medicina Interna, vol. IV, 1936. — ERSTEIN W. u. MUELLER J.: Virch. Arch., 62, 554, 1875. — EDSON N. L.: Bioch. J., 29, 2494, 1935. — ELLINGER A.: in OPPENHEIMER: Handb. d. Biochemie, 1910. — EMBDEN H.: Z. phys. Chem., 17, 182, 1893; 18, 304, 1894. — IDEM: Hofmeist. Beitr., 8, 129, 1906. — EMBDEN H. u. BALDES K.: Bioch. Zeitschr., 55, 301, 1913. — FALTA W.: Dtsch. Arch. f. Klin. Med., 81, 231, 1904. — FALTA W. u. LANGSTEIN L.: Z. phys. Chem., 37, 513, 1903. — FIGURA V.: Rend. Acc. Lincei, 29, 329, 1939. — FINK H.: Z. phys. Chem., 127, 193, 1931. — FISCHER E.: Unters. u. Amminosäuren, 1906. — FÖLLING A.: Z. phys. Chem., 227, 169, 1934. — FÖLLING A. u. CLOSS K.: Z. phys. Chem., 254, 256, 1938. — FÖLLING A., CLOSS K. u. GAMNES T.: Z. phys. Chem., 256, 1, 1938. — FRANZ L. u. LIEB H.: Z. phys. Chem., 182, 218, 1929. — FROMHERZ K.: Ueber Alkaptonurie. Mediz. Dissertation, Freiburg 1908. — FROMHERZ u. HERMANS: Z. phys. Chem., 91, 194, 1914. — FUNK C.: Chem. soc. of London, 101, 1007, 1912. — GARROD A. E.: Lancet, 2, 1616, 1902. — GARROD A. E. u. HURLEY W. C.: Journ. of Physiology, 35, 3, 1907. — GAVAZZENI e BESOZZI: Rif. Medica, 10, 351, 1932. — GEBHARDT: cit. da DOMINICI. — GEYGER: cit. da DE BENEDETTI. — GHIRARDI E.: Morgagni, 75, 1239, 1933. — GONNERMANN M.: Pflüg. Arch., 82, 289, 1900. — GROSS O.: Bioch. Zeitschr., 61, 165, 1914. — GROSS O. u. ALLARD: Zeitschr. f. klin. Med., 64, 359, 1907. — GRUTTERINK A.: Pharm. Weekblad, 45, 1171, 1908. — GÜGGENHEIM: Zeitschrift f. phys. Chemie, 88, 276, 1913. — HACH I.: Verh. dtseh. Ges. inn. Med., 165, 1930. Freigurb i. Pr. Dissert., 1934. — HAIN u. STENNER: Zeitschrift f. physiol. Chem., 181, 88, 1929. — HALLIBURTON: J. of Phys., 10, 232, 1899. — HECKER: cit. da BAUER e KIENBOECK. — HENDRIKSEN S. D. u. CLOSS K.: Acta Path. Micro. Scand., 15, 101, 1938. — HEYMANN: cit. da MONASTERIO. — HIRSCH: Berl. klin. Woch., 34, 866, 1897. — HOGREN L., WORALL R. L. u. ZIEVE: Proc. roy. Soc. Ed., 52, 264, 1932. — HUPPERT H.: cit. da NEUBERG. — HÜTHLE R.: Zeitschr. f. klin. Mediz., 114, 144, 1930. — JERVIS G. A.: J. Biol. Chem., 126, 305, 1938. — JERVIS G. A., BLOCH R. J., BOLLING D. u. KANZE E.: Z. Biol. Chem., 134, 105, 1940. — KATSCHE G.: Dtsch. Arch. Klin. Med., 127, 219, 1918; 134, 59, 1920. — IDEM: Zeitschr. f. klin. Med., 119, 1, 1931. — KATSCHE G. u. MADER: Klin. Woch., 7, 895, 1928. — KATSCHE G. u. METZ E.: Dtsch. Arch. klin. Med., 157, 143, 1927. — KATSCHE G. u. NEMET: Dtsch. Arch. klin. Med., 151, 336, 1926. — KATSCHE G. u. STERN G.: Dtsch. Arch. klin. Med., 151, 329, 1926. — KIRK R.: cit. da NEUBERG. — KLEIN O. e BLOCH K.: Klin. Woch., 36, 1684, 1936. — KNOOP F.: Z. phys. Chem., 67, 489, 1910. — KOTAKE Y., MASAI Y. u. MORI Y.: Z. phys. Chem., 122, 195, 1922. — KREBS: Z. phys. Chem., 217, 191, 1933. — KUMAGAI T. u. WOLFFENSTEIN R.: cit. da ELLINGER. — LAHILLE A.: Soc. Med. des Hôp., 1918. — LANDOIS: Virch. Arch., 193, 275, 1908. — LANGSTEIN L. u. MEYER E.: Dtsch. Arch. klin. Med., 78, 161, 1903. — LANYAR: Z. phys. Chem., 181, 88, 1929. — LANYAR E.: Z. phys. Chem., 273, 283, 1942; 275, 217 e 225, 1942. — LANYAR u. LIEB H.: Z. phys. Chem., 263, 135, 1931. — LEWIS J. H.: J. Biol. Chem., 70, 639, 1926. — LORENZ E.: Klin. Woch., 16, 1463, 1937. — MARGARIA R.: Principi di Ch. e Fisioc-ch. fisiologica. Milano, 1938. — METEJKA: Cas. lék. cesk., 1913. — MAZZA F. P.: Chimica biologica. Torino, 1942. — MEDES G.: Bioch. J., 36, 917, 1932. — METZ E.: Bioch. Zeit., 190, 261, 1917; Zeitschr. phys. Chem., 193, 46, 1930. — METZ E. u. LIEB H.: Bioch. Z., 190, 261, 1927. — MEYER E.: Dtsch. Arch. klin. Med., 70, 447, 1901. — MITTELBACH F.: Dtsch. Arch. klin. Med., 71, 50, 1901. — MONASTERIO G.: Disturbi del ricambio, 1941. — MORACZEWSKI (VON) W.: Centr. Inn. Med., 77, 177, 1896. — MOSONYI L.: Presse Méd., 37, 708, 1939. — NEUBAUER O.: Archiv. f. Klin. Mediz., 95, 211, 1909. — IDEM: Handb. d. norm. u. path. Phys., 1928. — NEUBAUER O. u. FLAVOU L.: cit. da NEUBERG. — NEUBAUER O. u. SACHS: cit. da HACH. — NEUBERG C.: in OPPENHEIMER: Handb. d. Bioch., 1910. — OGDEN H. V.: Z. phys. Chem., 20, 280, 1894. — OPPENHEIMER u. KLINE: cit. da MONASTERIO. — ORTON a. GARROD: Journ. of Physiology, 27, 89, 1901. —

OSBORNE W. A.: *J. Phys.*, 29, 13, 1933. — OSLER: *Lancet*, 10, 1904. — PAGET M. et VALDIGUIÉ P.: *Soc. de Chim. Biol.*, 23, 1518, 1941. — PAPAGEORGE E. e LEWIS H. B.: *Journ. of biol. Chem.*, 123, 211, 1938. — PRICK P.: *Berl. Woch.*, 1906. — PIETER: cit. da RUIZ. — POULSEN: cit. da BAUER e KIENBÖCK. — PUHR: cit. da BAUER e KIENBÖCK. — QUAGLIARELLO G.: *Lez. di Chim. biologica*. Napoli, 1937. — REINWEIN H.: *Dtsch. Arch. klin. Med.*, 170, 327, 1931. — RONDONI P.: *Elementi di Biochimica*. Torino, 1942. — RUIZ S.: *Actualidad Medica*, 16, 240, 1940. — RUMMERT O.: *Fortschr. Röntgenstr.*, 52, 497, 1935. — SACHS P.: *Dtsch. Arch. klin. Med.*, 170, 344, 1931. — SANTOS N.: cit. da RUIZ. — SCHIAPPOLI F.: *Riforma Med.*, 9, 331, 1938. — SCHUMM O.: *Münch. Med. Woch.*, 51, 1599, 1904. — SEABORN E.: *J. Am. Med. Ass.*, 110, 974, 1938. — SEALOK R. R., GALDSTON M. et STEELE J. M.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 44, 588, 1940. — SEALOK R. R. a SILBERSTEIN H. E.: *Journ. of biol. Chem.*, 135, 251, 1940. — *Idem*: *Science*, 90, 517, 1939. — SHAMBAUGH N. F., LEWIS H. B. a TOURTELLETTE D.: *J. Biol. Chem.*, 92, 499, 1931. — SIMONELLI G.: *Nozioni di chimica biologica*. Firenze, 1941. — SLOSSE: cit. da NEUBERG. — SOEDERBERGH: *J. of Am. Med.*, 6, 1915. — STANGE P.: *Virch Arch.*, 146, 86, 1896. — TANNHAUSER: *Medic. Dissertation*. München, 1910. — TOENISSEN: *Z. f. induct. Abst. u. Ver.*, 29, 1, 26, 1922. — UEBERMUTH H.: *Virch. Arch.*, 270, 276, 1928. — ULHOA CINTRA A. P.: *Rev. Med. Cirurg. Brasil*, 41, 219, 1933. — UMBER: cit. da CASSATA e da MONASTERIO. — VIRCHOW R.: *Virch. Arch.*, 37, 212, 1866. — WOLF: cit. da BAUER e KIENBÖCK. — WOMACK M. e ROSE W. C.: *Journ. of biol. Chem.*, 107, 449, 1934. — ZIMNICKI: cit. da DE BENEDETTI. — ZIMPER: *Diss. Würzburg*, 1903.

60966



