

MODIFICACIONES DE LOS NIVELES DE ACIDO DELTA AMINOLEVULICO DEHIDRASA EN PACIENTES ALCOHOLICOS CRONICOS

EVA A. WIDER¹, DANIEL FERRANTI², MARIA N. MOZZARELLI¹, HERNAN GIANCARLO², MARCELO GONZALEZ DELLA VALLE¹, VICENTE CIMMINO² Y ROBERTO MOVIA²

¹ Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires;

² Departamento de Medicina, Hospital General de Agudos Dr. Cosme Argerich, Buenos Aires

Resumen Estudios clínicos y bioquímicos fueron realizados sobre 58 pacientes con alcoholismo crónico, a su vez divididos en 3 grupos: A (hepatopatía alcohólica), B (hepatopatía y neuropatía alcohólica) y C (neuropatía alcohólica). Simultáneamente se investigaron varios parámetros relacionados con la biosíntesis del hemo. Se comprobó que el ácido delta-aminolevúlico (ALA), porfobilinógeno (PBG) urinarios y las porfirinas urinarias y fecales, no presentaron diferencias significativas entre los grupos estudiados. También se determinaron en eritrocitos las actividades de ALA-dehidrasa (ALA-D), uroporfirínógeno-I-sintetasa y uroporfirínógeno-III-sintetasa. De todos los datos obtenidos se comprobó que solamente el ALA-dehidrasa en los grupos B y C se hallaba significativamente disminuida ($P < 0,002$). La disminución de los niveles de ALA-D se correspondió con la severidad de la neuropatía.

Palabras clave: alcoholismo, etilismo, ácido delta aminolevúlico dehidrasa, polineuritis axonal, polineuritis axonomielínica

Los consumidores habituales de bebidas alcohólicas toleran grandes dosis de éstas, sobre todo por adaptación del sistema nervioso central (SNC), ya que adquieren tolerancia metabólica y aceleración progresiva del metabolismo del alcohol. Al respecto, se ha comprobado un incremento significativo en la actividad del sistema microsómico oxidante etanol (SMOE) (fosfolípidos, citocromo P-450 reductasa, reductasa y citocromo P-450)¹; también se halla estimulada la actividad de las enzimas que catalizan la síntesis de triglicéridos, colesterol y la síntesis de fosfatidicolina².

Considerando que la hepatopatía alcohólica se caracteriza por la modificación de la morfología y función mitocondrial y que los lípidos intervienen

en las estructuras de las membranas, se ha postulado que el consumo crónico del alcohol puede estar directamente vinculado a alteraciones de las propiedades estructurales de las membranas celulares. Si bien el alcohol afecta a varios sistemas corporales, entre sus acciones principales sobre el organismo se destacan las ejercidas sobre el hepatocito y el SNC.

En base a la observación efectuada en alcohólicos crónicos, se sabe que algunos de ellos sólo se expresan con manifestaciones neurológicas, otros con afecciones hepáticas y un tercer grupo con ambas; teniendo en cuenta la similitud en los síntomas de pacientes alcohólicos crónicos y porfíricos hepáticos agudos, se decidió realizar un estudio intensivo de los parámetros clínicos, hematológicos, radiológicos, anatomo-patológicos, electrofisiológicos y los vinculados al metabolismo de las porfirinas con el objetivo final de interrelacionar las alteraciones de este metabolismo con el compromiso neurológico de aquellos pacientes.

Recibido: 4-III-1996

Aceptado: 5-XII-1996

Dirección postal: Dra. E. Wider. Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Ciudad Universitaria, 1424 Buenos Aires, Argentina.

Material y métodos

Se consideró alcohólico al paciente que consumió más de 100 g/día del equivalente a alcohol etílico puro, en un lapso de tiempo mayor a los 5 años. Los pacientes fueron divididos en 3 grupos: A) hepatopatía alcohólica sin neuropatía, B) hepatopatía alcohólica con neuropatía y C) neuropatía alcohólica sin hepatopatía. Consideramos hepatópatas a los pacientes etilistas crónicos en los cuales el tóxico ha producido cirrosis, hígado graso, hepatitis y/o fibrosis portal. Se llegó al diagnóstico de estas entidades, por medio de la caracterización de los síntomas de hipertensión portal, y/o insuficiencia hepática, análisis de laboratorio, exámenes complementarios, y/o biopsia de hígado.

Consideramos pacientes portadores de neuropatía alcohólica, a los que han presentado: a) signos y síntomas clínicos clásicos de la enfermedad, con sus manifestaciones centrales y periféricas; y/o b) signos electromiográficos de polineuritis. Se excluyó a todo paciente que, aunque fuera alcohólico, padeciese otra enfermedad concurrente, que se manifestara o afectara al hígado o al sistema nervioso (Ej: hepatitis viral, intoxicación por metales, diabetes, etc.).

Se estudiaron 58 pacientes, 38 del sexo masculino 20 del sexo femenino. La edad promedio fue 52 años (rango de 32 a 74 años).

El consumo de alcohol diario promedio fue de 297 g con un rango de 150 a 700 g, siendo el tiempo de ingesta promedio de 18 años (rango 5 a 40 años).

De los pacientes estudiados, 29% pertenecía al grupo A, 45% al grupo B y 26% al grupo C.

Estudios del metabolismo de las porfirinas

El ácido delta-aminolevúlico (ALA) y el porfobilinógeno (PBG) se determinaron según el método de Mauzerall y Granick³. Las porfirinas urinarias libres se fraccionaron e identificaron con el método de Rimington⁴. El dosaje de las porfirinas urinarias y fecales esterificadas se efectuó según una modificación del método de With⁵. El índice de porfirinas plasmáticas (IPP) se realizó con el método de Schoua y Battle⁶. La actividad de ácido delta-aminolevúlico dehidrasa (ALA-D) se ensayó de acuerdo al método de Bustos y col⁷. Las actividades de porfobilinogenasa (PBG-asa) e hidroximetilbilano sintetasa se midieron según Battle y col⁸.

Todas las investigaciones se realizaron por el método doble ciego.

Los distintos valores obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante el test de Student.

Resultados

El consumo de alcohol expresado en gramos/día y el tiempo en años se muestra en la Tabla

TABLA 1.— Consumo de alcohol

Parámetros analizados	Grupos de pacientes		
	A	B	C
g de alcohol/día	288,45	306,40	266,10
años	20,67	16,10	18,20

TABLA 2.— Hallazgos clínicos de los pacientes de los grupos A, B y C

Parámetros analizados	Grupos de pacientes		
	A*	B*	C*
Ictericia	46	55	0
Ascitis	69	33	0
Spiders	35	30	0
Asterixis	45	22	0

* Los datos representan porcentaje de signos de hepatopatía alcohólica en los distintos grupos.

1 mientras que en la Tabla 2, se describen los hallazgos clínicos de compromiso hepático de los grupos A, B y C.

Se realizó la biopsia de hígado en 24 pacientes pertenecientes a los grupos A y B. Los diagnósticos histológicos de los grupos A y B fueron los siguientes: cirrosis 38%, hepatitis alcohólica 21%, fibrosis portal 4%, hígado graso 4% y hepatopatía indefinida 29%. En un paciente no se pudo determinar la hepatopatía porque no se obtuvo cantidad suficiente de tejido en la biopsia. Diecinueve pacientes de los grupos A y B no fueron biopsiados por presentar trastornos en las pruebas de coagulación.

Se investigó la presencia de várices esofágicas mediante radiografía seriada esofagogastroduodenal y/o esofagogastrotoscopia hallándose la presencia de várices esofágicas en 21 pacientes pertenecientes a los grupos A y B.

Los pacientes del grupo C presentaron exámenes de laboratorio normal y en ninguno de ellos se comprobó la presencia de várices esofágicas; no fueron sometidos a biopsia de hígado.

En todos los pacientes del grupo A el electromiograma fue normal. Veintiocho del grupo B y C presentaron polineuritis axonal degenerativa

TABLA 3.— *Estudios enzimológicos y determinaciones de metabolitos, porfirinas urinarias, fecales y plasmáticas*

Estudios realizados	Grupos de pacientes			Valor normal
	A	B	C	
ALA-D (U/ml)	0,657 ± 0,268	0,362 ± 0,145	0,354 ± 0,105	0,711 ± 0,231
Porfirinas urinarias (mg/24 hs)	127,5 ± 82,3	67,3 ± 51	94,8 ± 51,1	20 - 250
Porfirinas fecales (μg/g seco)	78,4 ± 41	80,4 ± 45,2	91,1 ± 32,8	30 - 130
Índice de fluorescencia a $\lambda = 617\text{nm}$	1,18 ± 0,08	1,21 ± 0,03	1,20 ± 0,08	≤ 1,3
ALA (mg/24 hs)	1,67 ± 0,37	1,60 ± 0,47	1,36 ± 0,37	2 - 4
PBG (mg/24 hs)	1,83 ± 0,55	1,4 ± 0,5	1,2 ± 0,45	1 - 2

y 9 axonomielínica; en 4 pacientes no se realizó electromiograma pero presentaron signos evidentes de polineuritis.

De los pacientes de los grupos B y C el 24% presentó electromiograma compatible con polineuritis sin síntomas clínicos. El 66% presentó clínica y electromiografía de polineuritis. En 4 pacientes no pudo realizarse la clasificación.

En la Tabla 3 se describen los resultados enzimáticos y del metabolismo de las porfirinas en orina, materia fecal y plasma. En todos los grupos analizados las determinaciones de precursores y porfirinas urinarias, las porfirinas en materia fecal, como así también las porfirinas presentes en plasma, analizadas mediante el índice de fluorescencia, no presentaron diferencias significativas entre ellos permaneciendo dentro de valores normales, con excepción de 3 pacientes cirróticos que presentaron leve aumento de porfirinas urinarias. Tampoco se hallaron diferencias entre los distintos grupos en las determinaciones de porfobilinogenasa e hidroximetilbilano sintetasa.

Para el grupo A la determinación de la media aritmética de la ALA-D fue de $0,657 \pm 0,268$ U/ml para un valor normal (VN) de $0,711 \pm 0,231$ U/ml.

Para el grupo B la determinación de la media aritmética de la ALA-D fue de $0,362 \pm 0,145$ U/ml, constatándose para el grupo C un valor de $0,354 \pm 0,105$ U/ml.

Discusión

De los estudios efectuados se comprueba que algunos pacientes con intoxicación crónica por etanol desarrollan diferentes grados de hepatopatía sin compromiso neurológico. Otros, en

cambio presentan manifestaciones neurológicas sin hepatopatía y existe también un tercer grupo en los cuales se afectan ambos órganos.

En todos los pacientes estudiados no hallamos diferencias con respecto a los valores normales en los niveles urinarios de los precursores ALA, PBG, ni de las porfirinas fecales y plasmáticas.

Ostrowsky et al⁹ correlacionaron los niveles de porfirinas urinarias con daño hepático. Nosotros hallamos sólo en 3 pacientes cirróticos sin daño neurológico aumento de los niveles de porfirinas urinarias.

Las determinaciones eritrocitarias de PBG-asa e hidroximetilbilano sintetasa permanecieron dentro de valores normales en todos los pacientes.

Resultados similares se obtuvieron en las determinaciones eritrocitarias de ALA-D correspondiente al grupo A.

En los pacientes de los grupos B y C, se halló un 50% de inhibición de la actividad de ALA-D ($p < 0,002$) respecto de los controles, mientras que en los pacientes del grupo A las diferencias no fueron significativas. Este hallazgo concuerda con la presencia de compromiso neurológico en los grupos B y C a diferencia del grupo A.

Un compromiso del sistema nervioso semejante al etilismo y además con disminución del ALA-D ha sido descripto en la tirosinemia hereditaria¹⁰, intoxicación por plomo y oro¹¹ y en una nueva forma de porfiria aguda¹².

No se pudo establecer correlación alguna entre los niveles de actividad enzimática de ALA-D y la cantidad de ingesta en años.

Mc Coll et al.¹³ y Sieg et al¹⁴ encontraron que pacientes con etilismo crónico y a los cuales se les determinó ALA-D al ingreso al hospital presentaba valores disminuidos (40% del valor normal).

Mc Coll et al.¹³ repitieron el dosaje de ALA-D entre el décimo y vigésimo día posterior a la internación y suspensión de la ingesta alcohólica observando que dichos valores se normalizaron. En ese estudio de 11 pacientes no se discriminó si presentaban o no compromiso neurológico.

Todos nuestros pacientes fueron evaluados a los fines de este estudio luego del décimo día de ingreso al hospital.

En los pacientes de los grupos B y C con polineuritis subclínica, en los cuales se dosó ALA-D, la media de este nuevo subgrupo fue $0,408 \pm 0,131$ U/ml, mientras que para los pacientes con polineuritis clínica de los mismos grupos el valor fue de $0,328 \pm 0,11$ U/ml (Fig. 1). Por otra parte, si comparamos los valores de ALA-D en los pacientes con compromiso del SNP con los que además tienen compromiso del SNC, observamos que en el primer caso la media de la actividad es de $0,376 \pm 0,060$ U/ml y en el segundo $0,260 \pm 0,081$ U/ml (Fig. 1).

Si bien la enfermedad de Wernicke y Korsakoff se relaciona con disminución en los niveles de tiamina, otras manifestaciones del sistema nervioso central en alcohólicos, no se deben a la deficiencia de esta vitamina. Por otra parte no se ha demostrado que la disminución de tiamina cause déficit en ALA-D.

Lo dicho nos permitiría postular una probable relación entre los niveles de ALA-D y el compromiso del sistema nervioso. En forma análoga po-

demos establecer que los niveles de la ALA-D pueden correlacionarse con el grado de polineuritis clínica o subclínica.

Estudios histológicos realizados en la polineuritis del alcoholismo revelan una degeneración no inflamatoria que afecta los cilindroejes y las vainas de mielina, siendo el proceso más intenso a nivel distal que en el proximal aunque en casos más avanzados puede observarse degeneración en las raíces anteriores y posteriores de la médula espinal.

La investigación anatopatológica efectuada en enfermos con porfirias agudas ha demostrado que análogamente a lo que ocurre en el alcoholismo, se produce degeneración axonal que precede a la mielinica¹⁵.

En los pacientes alcohólicos con signos clínicos de polineuritis, algunos autores^{16, 17} realizaron estudios electrofisiológicos hallando en los electromiogramas actividad de fibrilación u ondas agudas positivas como evidencia de degeneración axonal; la velocidad de conducción nerviosa varió desde límites inferiores normales hasta grado de retardo benigno, deduciéndose la escasa o nula afección de la mielina.

Estudios electromiográficos realizados en pacientes con porfirias agudas^{18, 19} revelaron signos de degeneración axonal, aunque en algunos casos se ha reportado disminución de la velocidad de conducción como signo de neuropatía mielinica^{20, 21}.

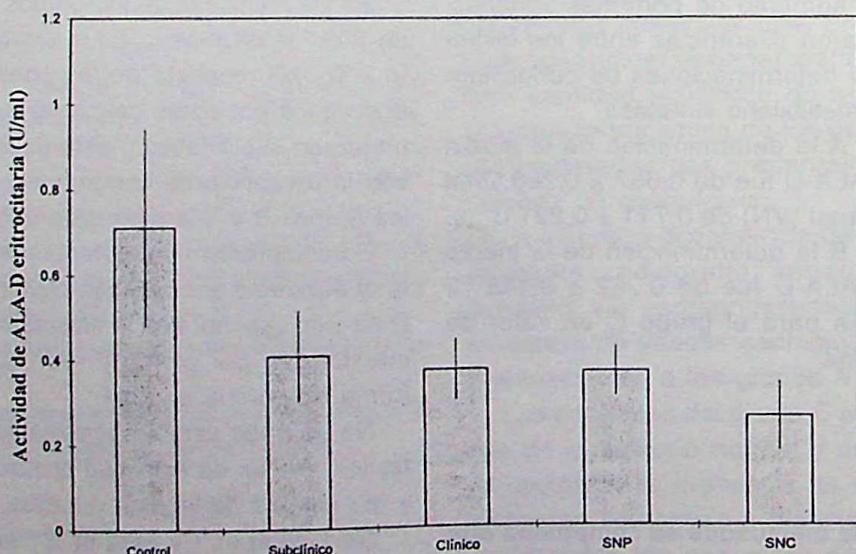


Fig. 1.— Estudios de ALA-D en pacientes con afecciones neurológicas. Las determinaciones enzimáticas se efectuaron según se describe en materiales y métodos.

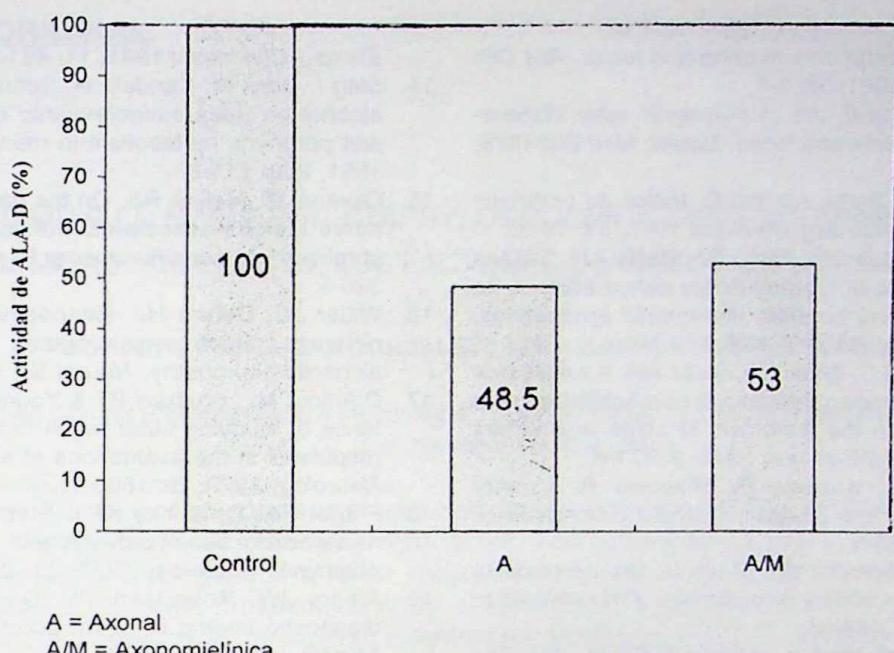


Fig. 2.— Determinaciones de ALA-D en pacientes con polineuritis axonal y axonomielínica. Las determinaciones enzimáticas se efectuaron según se describe en materiales y métodos.

De los 37 electromiogramas realizados a pacientes de los grupos B y C, el 24% tenían compromiso axonomielínico; cabe destacar que ninguno de los pacientes investigados era diabético. Esto representa un porcentaje significativamente superior al reportado en la bibliografía internacional. No consideramos que la diferencia de los valores medios de actividad para ALA-D en pacientes con compromiso axonal y axonomielínico sea significativa (Fig. 2).

Sólo los pacientes sin lesión neurológica presentaron valor normal de ALA-D.

Se concluye que de los pacientes analizados, solamente los alcohólicos con compromiso neurológico presentaron disminución del ALA-D eritrocitaria después de más de 10 días de suspendida la ingesta.

Como los niveles de ALA-D fueron correlacionables con el grado de polineuritis, se postula que el ALA-D podría emplearse como marcador de desarrollo de polineuritis en pacientes con etilismo crónico.

Summary

Modification of the levels of delta-aminolevulinic acid dehydratase in chronic alcoholic patients

Medical and biochemical analysis were performed on 58 patients with chronic alcoholism. In

accordance with medical characterisation, patients were divided in three groups: A (patients having only hepatopathy), B (patients with hepatopathy and neuropathy) and C (patients having only alcoholic neuropathy). Simultaneously, several parameters related to heme biosynthesis were examined. Urinary delta-aminolevulinic acid (ALA), porphobilinogen (PBG) and porphyrins and fecal porphyrins measurements did not show significant difference among all studied groups. The activities of ALA-dehydratase (ALA-D), uroporphyrinogen-I-synthase (URO-I-S) and uroporphyrinogen-III-synthase (URO-III-S) were monitored in peripheral erythrocytes. From the enzymes measured, only ALA-D levels in groups B and C were significantly depressed ($p < 0.002$) compared with normal subjects. The decrease in ALA-D correlated with the degree of neuropathy.

Bibliografía

1. Ohnishi K, Lieber CS. Reconstitution of the microsomal ethanol-oxidizing system. *J Biol Chem* 1977; 252: 7124-8.
2. Pritchard PH, Bowley M, Burditt SL, Cooling J, Glenny H, Lawson N, et al. The effects of acute ethanol feeding and chronic benfluorex administration in the activities of some enzymes of glycerol synthesis in rat liver and adipose tissue. *Biochem J* 1977; 66: 639-42.
3. Mauzerall D, Granick S. The occurrence and determination of aminolevulinic acid and porphobilinogen in urine. *J Biol Chem* 1956; 219: 435-45.
4. Rimington C. Quantitative determination of porphobi-

- linogen and porphyrins in urine and feces. *Ass Clin Broat Sheet* 1961; 36: 1-7.
5. With TK. Clinical use of porphyrin ester chromatography of urine and feces. *Danish Med Bull* 1975; 22: 80-6.
 6. Shou AEM, Batlle AM del C. Indice de porfirinas plasmáticas. *Rev Arg Dermatol* 1987; 68: 79-85.
 7. Bustos N, Stella AM, Wider EA, Batlle AM. Studies on erythrocyte aminolaevulinate dehydratase. I. Its purification and possible therapeutic applications. *Int J Biochem* 1980; 12: 745-9.
 8. Batlle AM del C, Wider EA, Stella AM. A simple method for measuring erythrocyte porphobilinogenase and its use in the diagnosis of acute intermittent porphyria. *Int J Biochem*. 1978; 9: 871-6.
 9. Ostrowski J, Kosecki P, Milewski B. Urinary porphyrins in liver disease. *Scand J Gastroenterol*. 1984; 19: 862-6.
 10. Lindblad R, Lindstedt S, Steen G. On the enzymic defects in hereditary tyrosinemia. *Proc Natl Acad Sci* 1977; 74: 4641-5.
 11. Dagg J, Goldberg A, Lockhead A, Smith JAQ. The relationship of lead poisoning to acute intermittent porphyria. *J Med* 1964; 34: 163-8.
 12. Doss M, von Tiepermann R, Schneider, Shmidtt J. New type of hepatic porphyria with porphobilinogen synthase defect and intermittent acute clinical manifestation. *Klin Wschr* 1979; 5: 1123-7.
 13. Mc Coll K, Moore M, Thompson G, Goldberg A. Abnormal haem biosynthesis in chronic alcoholics. *Europ J Clin Invest* 1981; 11: 461-7.
 14. Sieg I, Doss M, Kandels H, Schneider J. Effect of alcohol on delta-aminolevulinic acid dehydratase and porphyrin metabolism in man. *Clin Chim Acta* 1991; 202: 211-8.
 15. Cavana JB, Mellick RS. On the nature of peripheral nerve lesions associated with acute intermittent porphyria. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1965; 28: 320-6.
 16. Willer JC, Dehen HJ. Respective importance of different electrophysiological parameters in alcoholic neuropathy. *Neurol Sci* 1977; 33: 387-96.
 17. D'Amour ML, Shahani BT & Young RR. The importance of studying sural nerve conduction and late responses in the evaluations of alcoholic subjects. *Neurology* 1979; 29: 1600-4.
 18. Flugel KA, Druschky KFJ. Electromyogram and nerve conduction in patients with acute intermittent porphyria. *Neurology* 1977; 27: 267.
 19. Albers JW, Robertson JW, Daube JR. Electrodiagnostic finding in acute porphyric neuropathy. *Muscle and Nerve*. 1978; 1: 292.
 20. Mustajoki P, Steppalainen S. Neurophathy in latent hereditary hepatic porphyria. *Br Med J* 1975; 2: 310-5.
 21. Batlle AM del C, Parera VE, Stella AM, Wider E, Navarret E, Cotone V, Senatores V, Saks G, Paganó T. Porfiria aguda intermitente. Estudios electro-neurofisiológicos y bioquímicos en una forma neurológica convulsiva. *Prensa Med Argent* 1984; 71: 299-306.

Leer para releer: para ligarnos y religarnos, religiosamente, a los otros, al mundo: a la vida, a la verdad. Para no estar solos.

José Bergamín (1897-1983)

La corteza de la letra: Leer y releer. Buenos Aires: Losada, 1957, p17