

Excreción urinaria de metabolitos del triptófano (vía kinurenina) en niños sanos tras sobrecarga oral de L-triptófano

M. Cruz ^{*}, F. Rodríguez-Hierro y A. Torralba

Cátedras de Pediatría (Facultad de Medicina)
y de Fisiología Animal (Facultad de Farmacia)
Universidad de Barcelona
Barcelona (España)

(Recibido el 22 de julio de 1972)

M. CRUZ, F. RODRIGUEZ-HIERRO y A. TORRALBA. *Urinary Excretion of Metabolites of the Tryptophan-Kynurenine Pathway in Healthy Infants After an Oral Loading Dose of L-tryptophan*. R. esp. Fisiol., 28, 283-286. 1972.

The 12-hour urinary excretions of 3-hydroxykynurenine, kynurenine, xanthurenic acid, kynurenic acid and 3-hydroxyanthranilic acid were estimated in a group of twenty healthy infants after the administration of 100 mg of L-tryptophan per kilogram of body-weight.

Debido al papel fisiológico que desempeñan el triptófano y sus derivados, es de gran interés conocer su metabolismo normal. De las vías metabólicas del triptófano, la llamada «vía de la kinurenina» reviste excepcional interés ya que: *a*) a través de ella se metaboliza la mayor proporción del triptófano de la dieta (4); *b*) conduce a la formación de metabolitos de marcado interés fisiológico, como el ácido nicotínico (11), y *c*) el posible déficit de los coenzimas que intervienen en ella puede conocerse por alteraciones en dicha vía (16).

El estudio del metabolismo del triptófano puede hacerse de una manera estática determinando la excreción urinaria espontánea de sus distintos metabolitos, o bien de una forma dinámica estudiando estos metabolitos tras la administración de una dosis elevada de este aminoácido. Este último procedimiento constituye el test de sobrecarga del triptófano. GREENBERG (5) fue el primero que utilizó este test en el hombre y desde entonces son varios los autores que lo han empleado en diversas condiciones (7, 8, 10, 14). Debido a la falta de uniformidad en la metodología del test de sobrecarga en cuanto a la cantidad de triptófano administrada, a la forma D o L del mismo, a la duración de la prueba, a los métodos analíticos, y a la

* Departamento de Pediatría. Facultad de Medicina. Casanova, 143. Barcelona - 11 (España).

diversa forma de expresar los resultados, se carece, sobre todo en la edad infantil, de unos patrones de excreción normales. El presente trabajo es parte de un estudio sobre el metabolismo del triptófano en diversas enfermedades de la infancia que se ha realizado en la Clínica Pediátrica de la Universidad de Barcelona (3).

Material y métodos

El estudio se ha hecho en un grupo de veinte niños sanos de ambos sexos y de edad comprendida entre los cuatro y seis años. Todos proceden de la consulta externa del Departamento de Pediatría del Hospital Clínico de Barcelona, no padecían enfermedad conocida y todos consultaban por revisión periódica. Durante la prueba los niños hicieron su vida habitual, sin restricciones dietéticas ni de ejercicio físico. En el día de la prueba, los niños recibieron a las 9 horas a.m. 100 mg por kilogramo de peso de L-triptófano disuelto en medio vaso de leche azucarada. Se recogió la orina de las doce horas siguientes a la prueba, se midió el volumen y se guardó en congelador a -20°C . Tras descongelar la orina se analizaron muestras de 0,01 ml utilizando el método de separación por cromatografía bidimensional en papel descrito por COPPINI (2). De acuerdo con este método se identificaron las manchas de los siguientes metabolitos: kinurenina (K), 3-hidroxikinurenina (3OHK), N-alfa-acetil kinurenina (ACK), ácido antranílico (AA), ácido 3-hidroxi antranílico (3OHA), ácido kinurénico (AK) y ácido xanturénico (AX). Para la valoración cuantitativa, las manchas identificadas con luz ultravioleta de 3.655 Å se cortan en trozos de 5×5 mm, se colocan en tubos de centrifuga de 15 ml con tapón esmerilado y son diluidos con el solvente apropiado durante diez y ocho horas. Luego los tubos se centrifugan y los sobrenadantes se utilizan para valorar el correspondiente metabolito. Se recortan, asimis-

mo, trozos de papel de las partes libres de fluorescencia del mismo tamaño que las manchas respectivas, que se toman como blancos de papel.

Los diluyentes empleados han sido: 3,8 ml de agua destilada para la 3OHK, el AX y el 3OHA; 5 ml de ácido clorhídrico 0,4 N para la K, y 10 ml de etanol absoluto para la AK.

La valoración cuantitativa de los metabolitos diluidos se ha hecho frente a los respectivos patrones por espectrofotometría para la 3HK (240 nm), K (238 nm), AK (243 nm) y 3OHA (250 nm), y por medio de la fluorimetría el AX con una onda de excitación de 370 nm y una onda de emisión de 530 nm, siguiendo el método de SATOH y PRICE (13).

Resultados

Tras la sobrecarga con L-triptófano se ha observado en los cromatogramas de la orina de todos los niños la presencia constante de las manchas correspondientes a 3HK, K, AK, AX y 3OHA. Se apreciaron, además, otras manchas a la luz ultravioleta que no pudieron ser identificadas.

Los resultados cuantitativos con los valores medios y la desviación estándar se expresan en la tabla I.

Tabla I. Excreción urinaria de metabolitos del triptófano en niños sanos.

Dosis de L-triptófano: 100 mg/kg por vía oral. Los resultados, valores medios con su desviación estándar, se expresan en $\mu\text{M}/\text{kg}$ de peso/12 horas. Número de niños sanos: 20.

Metabolito	$\mu\text{M}/\text{kg}$ peso/12 h
3-hidroxikinurenina	$4,11 \pm 0,86$
Kinurenina	$6,57 \pm 2,25$
Acido xanturénico	$1,91 \pm 0,76$
Acido kinurénico	$4,10 \pm 1,44$
Acido-3-hidroxiantranílico	$2,20 \pm 0,50$

Es de interés señalar la ausencia de efectos secundarios importantes, sólo en dos niños apareció una ligera somnolencia.

Discusión

Para comparar nuestros resultados con otros existentes en la literatura hay algunas dificultades debido a que cada autor utiliza diferentes tipos y cantidades de triptófano en el test de sobrecarga. En cuanto a la forma de triptófano utilizada, la forma L es la de elección ya que la D (no natural) se absorbe con dificultad en el intestino por lo que, tras la sobrecarga oral, aparece en grandes cantidades en las heces; el D-triptófano absorbido se elimina rápidamente por la orina, pues no se reabsorbe en el túbulo renal. Por otra parte aparecen derivadas de la forma D en la orina que enmascaran los resultados, por lo que la forma L o natural es la que debe utilizarse.

En cuanto a la cantidad de L-triptófano administrada en el test de sobrecarga, PRICE (10) y MARVER (7) administran 2 g de L-triptófano, KOMROWER (6) y ROSE (11) 5 g y BOYLAND (1) 10 g. En todos estos casos existe el inconveniente de utilizar una dosis fija de L-triptófano. Ello es una seria dificultad en la edad infantil, ya que un lactante pesa siete veces menos que un adolescente y una dosis fija de L-triptófano no se ajusta a estas sensibles diferencias. En el presente trabajo se ha utilizado 100 mg de L-triptófano por kg de peso, usando la pauta de VASELLA (14) y MITCHAEEL (8).

A diferencia de la mayor parte de los autores que recogen orina durante las veinticuatro horas siguientes a la toma de L-triptófano, en este trabajo se ha recogido solamente durante un periodo de doce horas. Ello se debe no sólo a que la recogida de orina presenta en los niños notables dificultades de índole práctica, sino a que, como ha sido demostrado por WISEMAN (15), la mayor parte de los metabolitos del triptófano administrado aparecen en la orina en las primeras seis u ocho horas y que la eliminación de los distintos metabolitos del triptófano vuelve a valores normales a las doce horas.

Teniendo en cuenta lo antedicho, los resultados del presente estudio no difieren significativamente de los de VASELLA (14) y MITCHAEEL (8). También coinciden con los de O'BRIEN (9) con la excepción de la kinurenina que este autor encuentra unas dos veces más alta.

Resumen

Se ha medido la excreción de 3-hidroxikinurenina, kinurenina, ácido xanturénico, ácido kinurénico y ácido 3-hidroxiantranílico en la orina de doce horas tras la administración de 100 mg/kg de peso a un total de veinte niños sanos de edad comprendida entre cuatro y seis años.

Bibliografía

1. BOYLAND, E. y WILLIAMS, D. C.: *Biochem. J.*, **64**, 578, 1956.
2. COPPINI, D., BENASSI, C. A. y MONTORSI, M.: *Clin. Chem.*, **53**, 91, 1959.
3. CRUZ, M. y RODRÍGUEZ-HIERRO, F.: *Atti Convegni Farmitalia*. Milano, **64**, 79, 1969.
4. DALGLIESH, C. E.: Symposium XI: Vitamin metabolism. 4th Int. Congr. Biochem., Wien, 1958 (Vol. 11), pág. 32, Pergamon Press, London, 1960.
5. GREENBERG, L. D., BOHR, D. F., MC GRATH, H. y RINEHART, J. F.: *Arch. Biochem.*, **21**, 237, 1949.
6. KOMROWER, G. M., WILSON, V., CLAMP, J. M. y WESTALL, R. G.: *Arch. Dis. Child.*, **39**, 250, 1964.
7. MARVER, H. S.: *J. Lab. Clin. Med.*, **58**, 421, 1961.
8. MICHAEL, A. F., DRUMMOND, K. N., ULSTROM, R. A. y GOOD, R. A.: *Am. J. Dis. Childh.*, **37**, 16, 1962.
9. O'BRIEN, D. y GROSHEK, A.: *Arch. Dis. Childh.*, **37**, 16, 1962.
10. PRICE, J. M., BROWN, R. R. y YESS, N.: *Advances in Metabolic Disorders* (Vol. 2). Academic Press, Nueva York, 1965.
11. ROSE, D. P. y GROSHEK, A.: *Clin. Sci.*, **35**, 1, 1968.

12. SARET, H. P. y GOLDSMITH, G. A.: *J. Biol. Chem.*, **167**, 293, 1947.
13. SATOH, H. y PRICE, J. M.: *J. Biol. Chem.*, **230**, 781, 1958.
14. VASELLA, F., HELLSTROM, B. y WENGLE, B.: *Pediatrics*, **30**, 585, 1962.
15. WISEMAN, M. H., KALANT, N. y HOFFMAN, M. M.: *J. Lab. Clin. Med.*, **52**, 27, 1958.
16. YESS, N., PRICE, J. M., BROWN, R. R., SWAN, P. B. y LINKSWILER, H.: *J. Nutrition*, **84**, 229, 1964.