

Determinación cuantitativa del ácido formiminoglutámico (FIGLU) urinario

Por la Dra. JOSEFA GUAY SÁNCHEZ^(*)

Capítulo I

I. Introducción y método

Tanto la Vit. B12 como el ácido fólico, forman parte de una serie de sistemas enzimáticos, que tienen a su cargo la síntesis de los ácidos nucleicos, que son indispensables para que se lleve a cabo una hematopoyesis normal. El ácido fólico, una vez que bajo la influencia de la Vit. C y de la propia Vit. B12 se transforma en ácido folínico (tetrahidroformil-fólico, factor citrovorum), cataliza el metabolismo y el transporte de las unidades de un carbono necesarias para la formación de aminoácidos y de la síntesis de las nucleoproteínas.²

El factor citrovorum, es una coenzima necesaria para la síntesis del ácido nucleico y de los aminoácidos.² Se cree, que el ácido fólico actúa transfiriendo un átomo de carbono, un proceso fundamental en la síntesis de las nucleoproteínas.¹

En la anemia megaloblástica de la infancia, la determinación urinaria del ácido formiminoglutámico (FIGLU), ha sido un buen indicador del déficit de ácido fólico, encontrándose aumentado su excreción.^{1,2}

El FIGLU fue aislado probablemente por vez primera, como un precursor del ácido glutámico, en la orina de ratas

con déficit de ácido fólico, (Bakerman y cols., 1951). Una sustancia similar fue reportada por degradación enzimática de la Histidina por Borek y Waelsch, (1953). Probablemente idéntica con la sustancia encontrada en la orina de las ratas por Seegmiller y cols., (1954).³

El ácido formiminoglutámico (FIGLU), es un intermediario en la transformación de la histidina a ácido glutámico, por medio de la enzima formiminotransferasa, la cual transfiere el grupo formimino al ácido tetrahidrofólico. Esta última sustancia está ausente en la deficiencia de ácido fólico, acumulándose por tanto el FIGLU, siendo excretado en grandes cantidades por la orina.⁴ La histidina, es por tanto, un precursor del ácido formiminoglutámico en el organismo y ha sido administrada para aumentar su excreción (Tabor y cols, 1953).⁵ La histidina es un aminoácido básico (base hexónica); su degradación comienza por una eliminación de amoníaco, que corresponde a la formación de ácido fumárico; el compuesto no saturado recibe el nombre de ácido urocánico, por haber sido encontrado por primera vez en la orina del perro, sin embargo, no es ningún producto normal de excreción, sino que sufre ulteriores transformaciones; en esta reacción interviene una enzima, la histidasa. Por adición de agua, desplazamiento del doble enlace y la urocina-

(*) Especialista Pediatra de Primer Grado.

sa, se forma el ácido imidazolopropiónico, y de éste, por abertura hidrolítica del anillo, el ácido formiminoglutámico (FIGLU), transformándose el mismo por medio de la enzima formiminotransferasa y el ácido tetrahidrofólico en ácido glutámico. (Cuadro I).^{6,7,10,16}

La excesiva excreción del FIGLU, después de la sobrecarga por vía bucal de L-Histidina, ha sido informada en los pacientes con déficit de ácido fólico, y ha sido usado como una prueba para esta deficiencia (Luhby y cols., 1959 a y b, Spray y Witts, 1959).⁵ El FIGLU, se mantiene aumentado en la orina después de la administración de la L-Histidina durante tres días.²

La administración de una simple dosis de sobrecarga por vía bucal de L-Histidina, y el uso del alto voltaje electroforético para detectar FIGLU en la orina, es un rápido, específico y sensible método, de gran aplicación.⁸

Los individuos normales excretan menos de 2 mg/hora de FIGLU en la orina y usualmente trazas o nada. En la deficiencia de ácido fólico la excreción es mayor de 3.5 mg/hora.¹⁴ Se coincide en que la excreción de FIGLU en la orina ha sido mayor en los déficit de ácido fólico, que en los normales o los que tienen déficit de Vit. B12.⁸

La prueba parece ser de valor en la investigación de la anemia megaloblástica por déficit de ácido fólico.^{2,4,5,8,11,13,14,15}

El método empleado para la determinación cuantitativa del ácido formiminoglutámico (FIGLU), fue el utilizado por Kohn (1964), con algunas modificaciones.⁹

PROCEDIMIENTO

Se le suministra al paciente una sobrecarga en ayunas con L-Histidina por vía bucal a una dosis de 100 mg/lb., en

100 ml. de agua, se desecha la orina durante tres horas después de la ingestión y a partir de entonces, se colecciona la orina en un frasco con cristales de timol y 1/2 ml. de ácido clorhídrico concentrado durante 5 horas y se mantiene a una temperatura de 4 C.

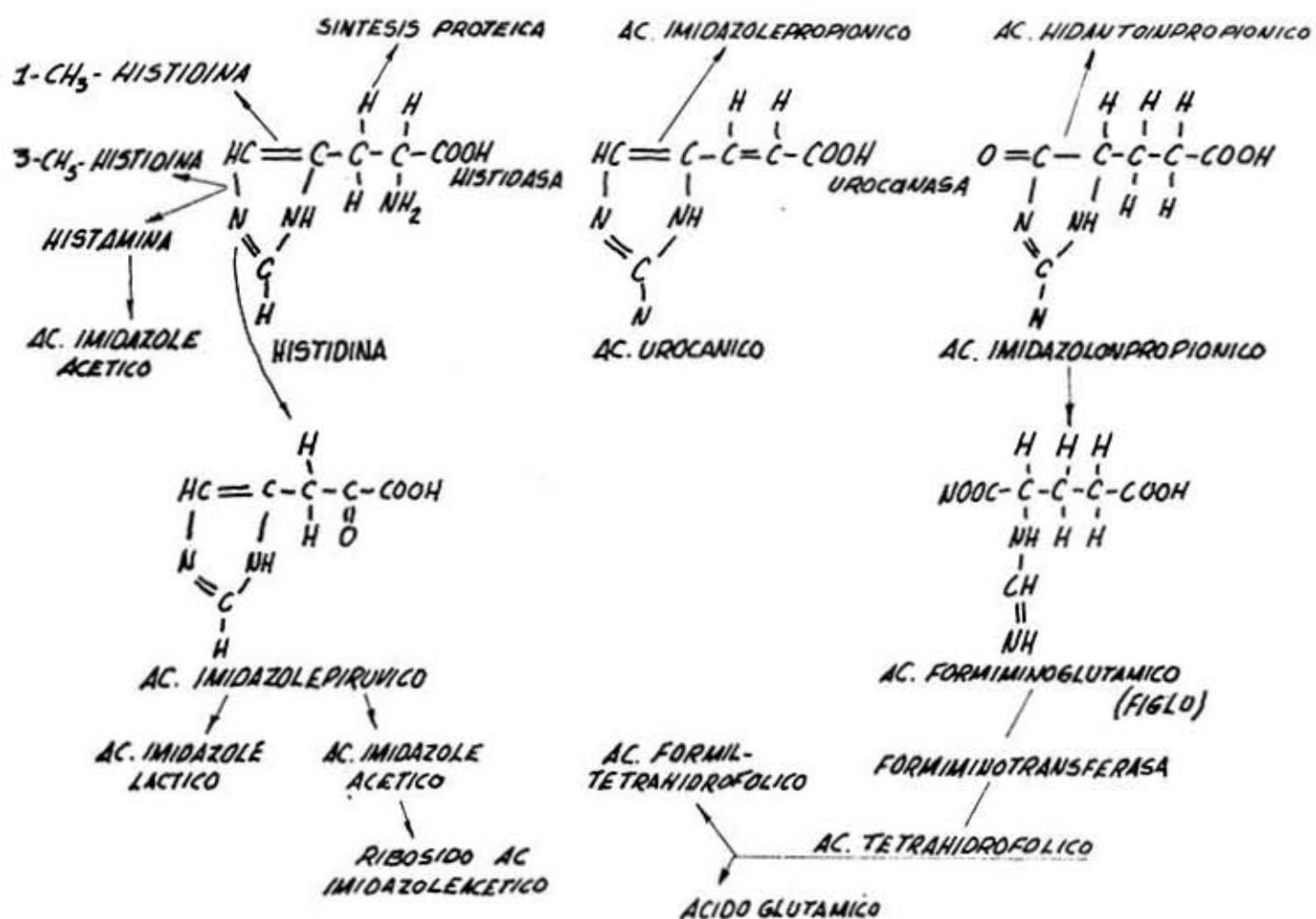
Usando papel Whartmann No. 1, en tirillas de 4 1/2 cms. de ancho por 14 cms. de largo y un buffer de acetato de piridina a un pH de 5.4; se colocan dos cintillas a la cámara electroforética durante 15 minutos a 300 Volts y 2.5 Amp.; luego, en cada una de las cintillas, se montan en su parte superior, iguales cantidades de la orina del paciente, previa sobrecarga con L-Histidina, y por debajo un control de FIGLU Patrón de 500 ug/ml, añadido a un control urinario.

Se realiza una corrida electroforética durante 50 minutos a 300 Volts y 2.5 mAmp. Se extraen las dos cintillas de la cámara electroforética y se secan en el horno entre 90 y 100 C durante 5 a 10 minutos.

Una de las cintillas se expone a vapores de amoníaco, y se somete a un abanicar suave para eliminar exceso de amoníaco. Las dos cintillas son coloreadas con colorantes de Ninhydrina al 0.2% en alcohol, y se secan al horno a una temperatura de 80 a 90°C durante 5 a 10 minutos.

Con esta técnica tres manchas son vistas en cada cintilla; la mancha próxima al cátodo corresponde a la histidina, la central a la glicina y la cercana al ánodo al ácido glutámico. Si el FIGLU está presente en la orina, esto puede ser detectado solamente sobre la cintilla expuesta al amoníaco como una mancha correspondiente a la movilidad del FIGLU y combinado con la mancha del ácido glutámico.

Una determinación semicuantitativa de la cantidad de FIGLU presente puede



CUADRO N° 1 METABOLISMO DE LA HISTIDINA

ser obtenida por comparación de la intensidad del color de la mancha control con la mancha de FIGLU del paciente.

Las manchas de aminoácidos correspondientes a la posición del FIGLU o ambos, la parte amoniacal y la no amoniacal de las cintillas son interceptadas. Las manchas de la parte no amoniacal sirve como un blanco. Esto se aplica a la prueba urinaria, así como al patrón urinario. Las manchas interceptadas son fragmentadas en pequeños pedazos y

se colocan en tubos de cristal rotulados en 1ml. de fluido eludido (38 Vol. de etanol al 75% y 2 Vol. de Sulfato de Cobre al 0.1% en H₂O). Los tubos son sostenidos y vigorosamente agitados de 15 a 30 minutos y entonces centrifugados a 1500 r.p.m. por 5 minutos. La elusión que sobrenada es medida alrededor de 540 m.u. en el espectrofotómetro.

El cálculo es como sigue:

(prueba orina NH₃) — (prueba orina de blanco)

$$\frac{(\text{Prueba orina NH}_3 - (\text{prueba orina de blanco}))}{(\text{Patrón NH}_3) - (\text{patrón de blanco})} \times \text{Patrón} = \text{FIGLU ug/ml. de orina.}$$

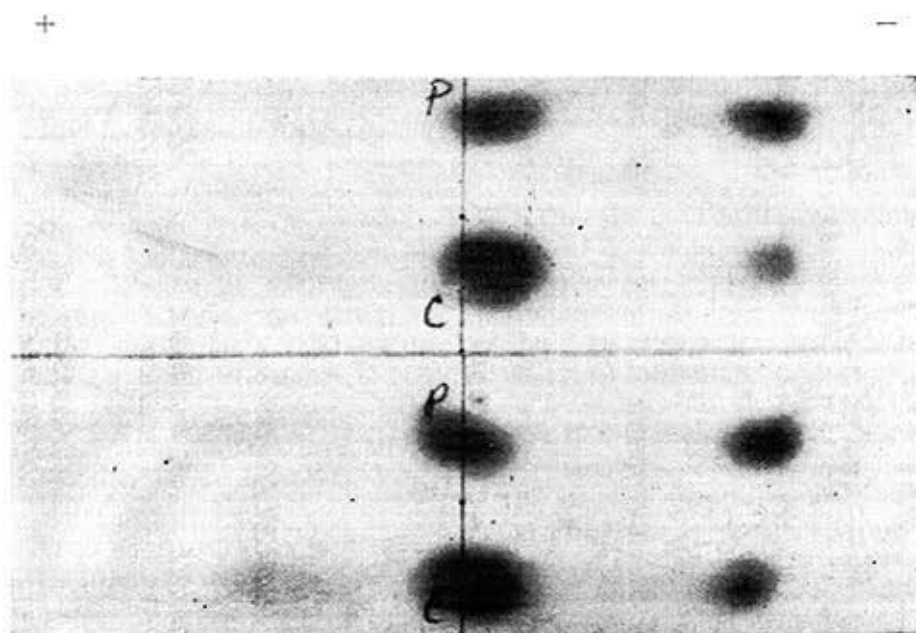


Fig. 1. Caso No. 20:

P = Orina del paciente 8 horas después de la sobrecarga por vía bucal con L-Istidina.

C = Control de FIGLU Patrón de 50 ug/ml. La cintilla inferior ha sido expuesta a vapores de amoniaco antes de ser coloreada con Ninhydrina; la superior ha sido coloreada directamente.

RESUMEN

1. Presentamos los fundamentos teóricos de la valoración cuantitativa del ácido formiminoglutámico (FIGLU) urinario, como prueba diagnóstica en el déficit de ácido fólico.
2. Se describe el método con algunas modificaciones, para la determinación cuantitativa electroforética.
3. Se hace énfasis sobre el valor de esta prueba en la investigación de la anemia megaloblástica por déficit de ácido fólico.

SUMMARY

The theoretical foundations of the quantitative valuation of the formiminoglutamic acid in urine, as a diagnosis-

tic test of folic acid deficiency, are presented. The method with several modifications for the electrophoretic quantitative determination is described. Emphasis on the value of this test in the investigation of the megaloblastic anemia for folic acid deficiency is made.

RESUME

Nous présentons les fondements théoriques de la valoration quantitative de l'acide formiminoglutamique urinaire, comme preuve diagnostique dans le déficit d'acide folique. On décrit la méthode avec quelques modifications, pour la détermination quantitative électrophorétique. On souligne la valeur de cette preuve dans l'investigation de l'anémie megaloblastique par déficit d'acide folique.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—*Drugs for Megaloblastic Anaemia*: Brit. Med. J.; 5351: 225, 1963.
- 2.—*Fanconi, G.*: Anemias Alimentarias: Rev. Clin. Esp. (Eur. Méd.); 1: 57, 1964.
- 3.—*Fleischhacker, H.*: Tratamiento de las Anemias Megalocitarias: Rev. Clin. Esp. (Eur. Méd.); 1: 11, 1964.
- 4.—*Gräsbeck, R., and Wegelius, R.*: Diagnosis of Folic Acid Deficiency by Determination of Urinary Formiminoglutamic Acid: Act Paed. (Supplement); 140: 105, 1963.
- 5.—*Herbert, V.; Chanarin, I., and Woods, D. D.*: Symposium on Folic Acid Deficiency: Proc. Roy. Soc. Méd.; 57: 377, 1964.
- 6.—*Hoffbrand, A. V.; Neale, G.; Hines, J. D.; and Mollin, D. L.*: The Excretion of Formiminoglutamic Acid and Urocanic Acid After Partial Gastrectomy: Lancet; 1: 1231, 1966.
- 7.—*Karlson, P.*: Manual de Bioquímica; III Ed., 155-156; Ed. Rev., La Habana, 1966.
- 8.—*Knowles, J. P.; Prankerd, T. A. J., and Westall, R. G.*: Simplified method for detection of Formiminoglutamic Acid in Urine as a test of Folic-Acid Deficiency: Lancet; 2: 347, 1960.
- 9.—*Kohn, J.*: Quantitative estimation of Formiminoglutamic Acid in Urine. (Technical Methods): J. Clin. Path.; 17: 466, 1964.
- 10.—*La Du, B. N.*: Histidinemia. Current Status: Am. J. Dis. Child; 113: 88, 1967.
- 11.—*Luhby, A. L., and Broquist, H. P.*: Urinary Formiminoglutamic Acid and Biochemical test for Folic Acid Deficiency: A.M. A.J. Dis. Child.; 94: 553, 1957.
- 12.—*Luhby, A. L.*: Megaloblastic Anemia in Infancy. Clinical Considerations and Analysis: J. Ped.; 54: 617, 1959.
- 13.—*Luhby, A. L.; Cooperman, J. M., and Teller, D. N.*: Histidine Metabolic Loading test to distinguish Folic Acid Deficiency from Vit. B12 in Megaloblastic Anemias: Proc. Soc. Exp. Bio. Méd.; 101: 350, 1959.
- 14.—*Smith, C. H.*: Blood Disease of Infancy and Childhood; II Ed., págs. 226-242: 547-575; the C. V. Mosby Company, U.S.A., 1966.
- 15.—*Spray, G. H., and Witts, L. J.*: Excretion of Formiminoglutamic Acid as an Index of Folic Acid Deficiency: Lancet; 2: 702, 1959.
- 16.—*Waisman, H. A.*: Formiminotransferase Deficiency Syndrome: Ped. Clin. N. A.; 13: 490, 1966.

GLOSARIO DE TERMINOS MEDICOS



El Centro Nacional de Información de Ciencias Médicas, a través de las ediciones de Ciencia y Técnica del Instituto del Libro, ha publicado un nuevo

GLOSARIO DE TERMINOS MEDICOS

—inglés-español—

que agrupa un aproximado de 14,000 vocablos de ciencias médicas y afines, así como giros y expresiones del idioma inglés, cuyo empleo es habitual en publicaciones de esta índole.

La obra brinda a médicos, biólogos, estomatólogos, farmacéuticos, técnicos medios, traductores y estudiantes que confrontan dificultades con el idioma inglés, un valioso instrumento de consulta y de trabajo.

Aquellas personas interesadas en la obtención de este glosario podrán dirigir su solicitud al Instituto del Libro.