

Evaluación del aminoácido L-canavanina como tratamiento coadyuvante en leucemias agudas linfoblásticas

Briceida López-Martínez¹
Mario Gutiérrez-Romero²
Eliseo Ruiz-Bedolla¹

¹ Laboratorio Clínico, Hospital Infantil de México
Federico Gómez.

² Hematología, Investigación, Hospital General de
México.

RESUMEN

Antecedentes: hay pocos medicamentos que son efectivos para el tratamiento de los pacientes con leucemia aguda linfoblástica en recaída, además, no son accesibles, son de alto costo y con diversos efectos adversos. La L-canavanina es un aminoácido vegetal que tiene efecto antimetabólico, produce apoptosis y potencializa algunos quimioterápicos administrados a los pacientes con hemopatías malignas, como las leucemias; puede actuar como tratamiento coadyuvante.

Objetivos: valorar a la L-canavanina como agente terapéutico coadyuvante en el tratamiento de pacientes con leucemia aguda linfoblástica e identificar sus efectos adversos.

Material y método: estudio descriptivo y prospectivo en el que se incluyeron pacientes con el diagnóstico de leucemia aguda linfoblástica que se distribuyeron al azar para recibir L-canavanina o placebo a dosis de 600 mg/m² dividida en tres dosis al día durante 60 días. Se midieron las concentraciones séricas de L-canavanina, colesterol y triglicéridos y se realizaron: biometría hemática, pruebas de función hepática y química sanguínea; asimismo, se valoraron los efectos colaterales.

Resultados: los pacientes que recibieron L-canavanina aumentaron sus concentraciones plaquetarias, también mejoró su actividad física y los analitos sanguíneos evaluados, en comparación con los que recibieron placebo.

Conclusiones: la L-canavanina es una buena opción como coadyuvante en el tratamiento de pacientes con leucemia aguda linfoblástica a largo plazo, porque es un producto de bajo costo y con mínimos efectos colaterales.

Palabras clave: L-canavanina, leucemias, tratamiento.

Evaluation of amino-acid L-canavanine as adjuvant therapy in acute lymphoblastic leukemia

Recibido: 25 de septiembre 2014

Aceptado: 20 de noviembre 2014

Correspondencia: Dr. Eliseo Ruiz Bedolla
Laboratorio Clínico
Hospital Infantil de México Federico Gómez
Dr. Márquez 162
06720 México, DF
helix@prodigy.net.mx

ABSTRACT

Background: There are few therapeutic agents that are effective for patients with relapsed acute lymphoblastic leukemia, furthermore they are not of easy access, are very expensive and with several adverse effects.

Este artículo debe citarse como

López-Martínez B, Gutiérrez-Romero M, Ruiz-Bedolla E. Evaluación del aminoácido L-canavanina como tratamiento coadyuvante en leucemias agudas linfoblásticas. Rev Hematol Mex 2015;16:3-8.

L-canavanine is an amino acid that induces apoptosis and enhances some chemotherapies when administering to patients with malignant hemopathy as leukemia and might strengthen the action of certain therapeutic agents.

Objectives: To assess L-canavanine as adjuvant therapeutic agent in the treatment of patients with acute lymphoblastic leukemia and to identify its adverse effects.

Material and method: A descriptive and prospective study that included patients with diagnosis of acute lymphoblastic leukemia to who by randomness was administered L-canavanine or placebo 600 mg/m² separated in 3 dosage daily during 60 days. Then were analyzed serum levels of L-canavanine, blood cytology, liver function tests, cholesterol and tryglicerides, as well as the side effects.

Results: Patients receiving L-canavanine had good levels of platelets, increased their physical activity and improved their levels of laboratory tests in comparison with patients receiving placebo.

Conclusions: L-canavanine is a good option as therapeutic aid with better clinical outcomes in patients with acute lymphoblastic leukemia to long time because it is a product cheap and with few side effects.

Key words: L-canavanine, leukemia, adjuvant treatment.

ANTECEDENTES

La L-canavanina es un aminoácido no proteico que actúa como antimetabolito antagonista de la L-arginina; se encuentra en mayor cantidad en la alfalfa y también en frijol de soja;^{1,2} es competitivo de la L-arginina con efecto antineoplásico, esto se ha observado en células de cultivo de cáncer de páncreas,^{3,4} adenocarcinoma de pulmón,⁵ melanoma, sarcoma uterino y leucemia.⁶ En animales este efecto se ha estudiado en cáncer de colon inducido en ratas y en la leucemia murina L1210.^{6,7}

La enzima arginasa acepta la L-canavanina como sustrato.^{8,9} En el metabolismo celular normal la arginina se metaboliza por la enzima arginasa y se transforma en ornitina que por medio de la ornitín Descarboxilasa dependiente del fosfato de piridoxal se transforma en poliaminas, que

tienen un papel muy importante en los procesos de crecimiento, multiplicación y diferenciación celular. La L-canavanina bloquea las funciones y efectos de la arginina a través de su potente metabolito, la L-canalina que inactiva al fosfato de piridoxal e inhibe el crecimiento celular¹⁰ y funciona como un antagonista de la ornitina.⁸

La L-canavanina es un antimetabolito que compete con la L-arginina bloqueando sus funciones en la síntesis de precursores del ADN actuando como antimetabólico al detener la síntesis de proteínas en fase G1 a S del ciclo celular e induciendo apoptosis. También se ha prescrito como hipocolesteremiante sin causar efectos secundarios adversos, sólo meteorismo en algunos pacientes. Tiene una fuerte actividad antineoplásica contra varios carcinomas en animales y líneas celulares; se encuentra en la alfalfa a una concentración de 1.5 a 2.4%.¹¹ En estudios con células de

adenocarcinoma de pulmón se ha demostrado que la canavanina inhibe el crecimiento celular y además detiene el ciclo celular en la fase G1, induciendo la fosforilación incompleta de la proteína del retinoblastoma. En la línea celular de cáncer de colon humano HT-29 la L-canavanina administrada previamente demostró una marcada sensibilización a la radiación con rayos gamma.¹¹

Con la información anterior, el objetivo de este estudio es valorar a la L-canavanina como agente terapéutico coadyuvante en el tratamiento de pacientes con leucemia aguda linfoblástica, establecer la posología adecuada, corroborar si potencializa los efectos de algunos quimioterápicos antracíclicos, antimitóticos y antimetabolitos cuando se administra a los pacientes como parte del tratamiento e identificar los efectos adversos de la administración de L-canavanina.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio descriptivo y prospectivo en el que se incluyeron 21 pacientes de 16 a 40 años de edad, con diagnóstico de leucemia aguda linfoblástica y en recaída, que fueron distribuidos al azar para recibir L-canavanina o placebo a una dosis de 600 mg/m², dividida en tres dosis al día, durante 60 días. A 10 pacientes se les administró L-canavanina, seis eran del sexo masculino. Se administró placebo a 11 pacientes, seis de ellos del sexo femenino. Los pacientes se citaron cada 30 días a consulta para medirles las concentraciones séricas de L-canavanina, valorar la respuesta clínica y los resultados de laboratorio con biometría hemática, pruebas de función hepática y concentraciones de colesterol y triglicéridos. También se valoró en todos los pacientes el grado de funcionalidad física con la escala ECOG (*Eastern Cooperative Oncology Group*) y la escala de Karnofsky al inicio y al final del estudio junto con los estudios de laboratorio para evaluar los posibles efectos colaterales.

Los pacientes del estudio se dividieron en dos grupos:

Grupo de pacientes con leucemia aguda linfoblástica que después de su primer tratamiento de inducción no entraron en remisión, tuvieron remisión parcial o estaban en recaída. Al mismo tiempo que recibieron el tratamiento habitual también recibieron L-canavanina en forma de cápsulas de semillas de alfalfa que contenían 150 mg del producto que ingerían por vía oral a dosis de 600 mg/m² diarios, dividida en tres tomas, durante 60 días.

Grupo control: pacientes con leucemia aguda linfoblástica con características similares a las de los pacientes del grupo de estudio, que en lugar de L-canavanina recibieron placebo en forma de cápsulas idénticas a las del producto en estudio.

La citometría hemática se procesó en un contador de células Coulter Counter, modelo LH750; las pruebas de función hepática, colesterol, ácido úrico y triglicéridos se determinaron en un analizador automático marca Siemens, modelo RXL, y la canavanina se determinó con la técnica de Rosenthal.¹²

RESULTADOS

Todos los pacientes tenían leucemia aguda linfoblástica tipo L2 y a todos se les valoró el grado de funcionalidad física con la escala de ECOG y la escala de Karnofsky al inicio y al final del estudio. Los pacientes de ambos grupos mostraron mejoría significativa al final del estudio.

Las concentraciones séricas basales de L-canavanina fueron de 5 a 6 mg/dL en ambos grupos y al administrar 300 mg cada 8 horas, éstas aumentaron de 10 a 11 mg/dL en ocho semanas en el grupo de L-canavanina, con diferencia significativa ($p < 0.01$).

Las concentraciones séricas de L-canavanina terapéuticamente requeridas se obtuvieron a partir de la cuarta semana y su pico máximo se obtuvo en la semana 8.

Las cifras de hemoglobina tendieron a disminuir en el grupo que recibió L-canavanina: al inicio fueron de 12.2 g/dL y a la octava semana, de 11.2 g/dL; en el grupo que recibió placebo no hubo cambios. Los pacientes que recibieron L-canavanina tuvieron mejoría de la cuenta de plaquetas: 160,000 al inicio y 185,000 al final; en cambio, en el grupo placebo las plaquetas disminuyeron de 175,000 al inicio a 130,000 al final. Las concentraciones de deshidrogenasa láctica disminuyeron de 140 a 125 UI/L; en cambio, en el grupo placebo aumentaron de 160 a 240 UI/L. En el grupo de estudio el colesterol total permaneció sin cambios (170 mg/dL) y en el grupo placebo aumentó de 155 a 185 mg/dL; las concentraciones de triglicéridos permanecieron sin cambios (140 mg/dL) en el grupo de estudio y en el grupo placebo se incrementaron de 150 a 180 mg/dL, el ácido úrico permaneció sin cambios en el grupo de estudio (4 mg/dL) y en el grupo placebo se incrementó de 4.6 a 5.4 mg/dL (Cuadro 1).

Respecto de los efectos secundarios, sólo cuatro pacientes del grupo de estudio que recibieron L-canavanina tuvieron efectos adversos, que consistieron en distensión abdominal, meteorismo y flatulencia.

DISCUSIÓN

La leucemia aguda linfoblástica es una enfermedad neoplásica que se distingue por la proliferación incontrolada de células linfoides inmaduras; la Organización Mundial de la Salud la define como la existencia de más de 20% de linfoblastos en la médula ósea y más de 5% en sangre periférica. En años recientes se desarrollaron diversos regímenes de tratamiento

Cuadro 1. Resultados de laboratorio de los pacientes distribuidos por grupo

	Basal	Semana 4	Semana 8
Colesterol (mg/dL)			
Placebo	155	190	185
L-canavanina	170	170	175
DHL (UI/L)			
Placebo	160	230	240
L-canavanina	140	130	125
Hemoglobina (g/dL)			
Placebo	10.4	10.8	10.6
L-canavanina	12.3	12	11.2
Neutrófilos (mm³)			
Placebo	1,600	2,000	2,800
L-canavanina	2,400	2,300	2,600
Plaquetas (mm³)			
Placebo	175,000	158,000	125,000
L-canavanina	160,000	175,000	185,000
Triglicéridos (mg/dL)			
Placebo	150	165	180
L-canavanina	140	160	140
Ácido úrico (mg/dL)			
Placebo	4.6	5.5	5.4
L-canavanina	4.1	4	4

de la leucemia aguda linfoblástica en el adulto, pero, a pesar de obtener remisiones completas en 65 y 85%, las recaídas son frecuentes; la supervivencia libre de enfermedad a cinco años es de alrededor de 20% y la mayoría de los pacientes adultos muere a consecuencia de la enfermedad. Los resultados con terapia de salvamento siguen siendo insatisfactorios porque el periodo de supervivencia libre de enfermedad es de únicamente dos a ocho meses. Debido a los efectos de la L-canavanina en la linfoproliferación, ésta puede ser de utilidad para maximizar sus efectos terapéuticos y minimizar los efectos tóxicos de los nuevos agentes antineoplásicos.⁹ Con la L-canavanina se espera contribuir a la alteración de la historia natural de la enfermedad. En la leucemia murina L1210 la infusión de 20 mg/h de L-canavanina en 24 horas produjo la inhibición de 86% en la síntesis de ADN.⁶ En cultivos celulares de sar-

coma son tres veces más sensibles a los efectos citotóxicos de la doxorubicina, también son significativamente más sensibles a cisplatino, 5-fluorouracilo, mitoxantrona y bleomicina, lo que sugiere el papel de la L-canavanina como agente quimiosensibilizador.¹³

Es bien conocida la actividad de la L-canavanina como agente citotóxico en células procariotas y eucariotas; asimismo, se reconoce como un inhibidor de la síntesis de ADN y ARN viral. La inhibición de la síntesis de ADN causada por la L-canavanina es muy rápida, por tanto, se piensa que afecta una o más proteínas que son necesarias para la replicación de ADN. Se considera que las propiedades antimetabólicas se deben a que la enzima RNAt arginil-sintetasa no diferencia adecuadamente entre L-canavanina y L-arginina, por tanto, la L-canavanina se incorpora dentro de las células causando aberraciones estructurales y funcionales de las proteínas implicadas en la replicación del ADN y transcripción de ARN, entre otros mecanismos de efectos antitumorales.

La L-canavanina es un producto de origen natural que se ha explorado poco en humanos. En este estudio se investigó si tiene algún efecto como coadyuvante antineoplásico en pacientes con leucemia aguda linfoblástica en recaída, comparando dos grupos. El grupo A recibió L-canavanina y el grupo B, placebo; ambos grupos recibieron conjuntamente la quimioterapia estrictamente establecida. Las concentraciones basales de L-canavanina que se obtuvieron en un estudio previo fueron de 5 ± 1 mg/dL y al administrar 300 mg de canavanina cada 8 horas esas concentraciones se mantuvieron al doble y, por los resultados obtenidos, se observa que la concentración adecuada debe ser entre 10 y 12 mg/dL, lo que se logró a partir de la cuarta semana y alcanzó su nivel máximo a la semana 8. En un estudio previo de Thomas y colaboradores,⁷ en el que utilizaron células de tumor de colon, se demostró que con una dosis de 50 µg/mL el nú-

mero de células persistió sin cambio; sin embargo, a una concentración de 200 µg/mL bloquea la primera división celular causando muerte celular.⁷ En otro estudio de leucemia murina L1210, los mismos autores observaron que la infusión de 20 mg/hora durante 24 horas de L-canavanina causa 86% de inhibición de la síntesis de ADN.

En este estudio se observó disminución de las concentraciones de hemoglobina y aumento del número de plaquetas. Esto coincide con lo publicado por Malinow acerca de un paciente que ingirió capsulas de alfalfa como agente hipocolesterolemiante a razón de 900 mg diarios durante cinco meses, en quien se encontró discreta anemia y leucopenia y retornó a concentraciones normales cuando se suspendió la ingestión de alfalfa.¹⁴ En este estudio se observó que los pacientes que recibieron placebo tendieron a incrementar sus concentraciones de colesterol y triglicéridos; también aumentaron las concentraciones de DHL y ácido úrico; en cambio, los pacientes que recibieron L-canavanina disminuyeron sus concentraciones de los mismos parámetros o por lo menos no se incrementaron (Cuadro 1).

Los efectos secundarios sólo afectaron de manera leve a cuatro pacientes y consistieron en distensión abdominal, meteorismo y flatulencia.

Las concentraciones séricas de L-canavanina terapéuticamente requeridas se obtuvieron a partir de la cuarta semana y su pico máximo se obtuvo en la semana 8, por lo que los resultados no son concluyentes, por tanto, se sugiere hacer un estudio con una población más grande y con una dosis mayor de L-canavanina para alcanzar más rápido las concentraciones terapéuticas, así como con un periodo de observación más largo porque no se descarta que la L-canavanina sea una opción como coadyuvante en pacientes con leucemia aguda linfoblástica a largo plazo

debido a que es un producto de bajo costo, bien tolerado y con mínimos efectos colaterales.

REFERENCIAS

1. Malinow MR, Bardana EJ, Goodnight SH. Pancytopenia during ingestion of alfalfa seeds. *Lancet* 1981;14:615.
2. Swaffar DS, Ang CY. Growth inhibitory effect of L-canavanine against MIA Pa Ca-2 pancreatic cancer cells is not due to conversion to its toxic metabolite canaline. *Anticancer Drugs* 1999;10:113-118.
3. Swaffar DS, Ang CY, Desai PB, et al. Inhibition of the growth of human pancreatic cancer cells by the arginine antime-tabolite L-canavanine. *Cancer Res* 1994;54:6045-6048.
4. Ding Y, Matsukawa Y, Ohtani Fujita N, et al. Growth in-hibition of A 549 human lung adenocarcinoma cells by L-canavanine is associated with p21/ WAFI induction. *Cancer Res* 1999;90:69-74.
5. Mattei E, Damasi D, Mileo AM, et al. Stress response survival and enhancement of heat sensitivity in a human melanoma cell line treated with L-canavanine. *Anticancer Res* 1992;12:757-762.
6. Green MH, Brooks TL, Mendelsohn J, et al. Antitumor activity of L-canavanine against L1210 murine leukemia. *Cancer Res* 1980;40:535-537.
7. Thomas DA, Rosenthal GA, Gold DV, et al. Growth inhi-bition of a rat colon tumor by L-canavanine. *Cancer Res* 1986;46:2898-2903.
8. Green MH, Ward JF. Enhancement of human tumor cell killing by L-canavanine in combination with gamma-radiation. *Cancer Res* 1983;43:4180-4184.
9. Bence AK, et al. The antiproliferative and immunotoxic effects of L-canavanine and L-canaline. *Anticancer Drugs* 2002;13:313-320.
10. Ruiz BE, Bravo M JF. Ornitina sérica en pacientes con lupus eritematoso sistémico. *Rev Mex Patol Clin* 1997;44:217-221.
11. Rosenthal GA, Nkomo P. The natural abundance of L-canavanine, an active anticancer agent, in alfalfa, medicago sativa (L). *Pharm Biol* 2000;38:1-6.
12. Rosenthal GA. Preparation and colorimetric analysis of L-canavanine. *Anal Biochem* 1977;77:147-151.
13. Worthen DR, Chien L, Tsuboi CP, et al. L-canavanine modu-lates cellular growth, chemosensitivity and p-glycoprotein substrate accumulation in cultured human tumor cell lines. *Cancer* 1998;132:229-239.
14. Malinow MR, McLaughlin P, Naito HK, et al. Effect of alfalfa meal on shrinkage of atherosclerotic plaques during cholesterol feeding in monkeys. *Atherosclerosis* 1978;30:27-43.