



Evaluación del aminoácido L-canavanina en suero de pacientes con lupus eritematoso sistémico

Eliseo Ruiz-Bedolla,* Briceida López-Martínez,* Israel Parra-Ortega*

Palabras clave:

Aminoácido
L-canavanina,
lupus eritematoso
sistémico.

Key words:

Amino acid
L-canavanine,
systemic lupus
erythematosus.

* Laboratorio Clínico.
Hospital Infantil de
México «Federico
Gómez», México, D.F.

Correspondencia:
Eliseo Ruiz Bedolla
Laboratorio clínico
Hospital Infantil de
México
Dr. Márquez Núm.
162, Col. Doctores,
06720, México, D.F.
Tel. 52289917,
ext. 2280
E-mail:
hélix@prodigy.net.mx

Recibido:
29/02/2016
Aceptado:
28/04/2016

RESUMEN

Objetivo: Conocer los niveles de L-canavanina en suero de pacientes con lupus eritematoso sistémico. **Material y métodos:** Se evaluaron los niveles séricos de L-canavanina en 100 individuos con lupus eritematoso sistémico (LES) y 100 muestras de sujetos sanos. **Resultados:** En personas sanas, se encontraron de 1.8 a 3.8 mg/dL de L-canavanina, con una media de 3.1; en pacientes con lupus eritematoso, los valores encontrados fueron de 3.8 a 16 mg/dL, con una media de 7.1, con $p < 0.01$. También se encontró una sensibilidad de la prueba de 96%, con una especificidad de 95%. Este es el primer trabajo de investigación que se hace sobre la presencia de canavanina sérica en pacientes con lupus eritematoso; por lo tanto, no se puede hacer comparación con otros estudios. **Conclusiones:** De acuerdo con los resultados obtenidos, la evaluación de la L-canavanina en suero puede ser útil como apoyo al diagnóstico del lupus eritematoso sistémico.

ABSTRACT

Objective: This study aims to know the levels of L-canavanine in the serum of patients with systemic lupus erythematosus. **Material and methods:** We determined the levels of serum L-canavanine in 100 patients with systemic lupus erythematosus (SLE) and 100 samples of healthy subjects. **Results:** The levels of serum L-canavanine in healthy subjects were 1.8 to 3.8 mg/dL, with a mean of 3.1 mg/dL, and 3.8 to 16 mg/dL, with a mean of 7.1 mg/dL, in patients with systemic lupus erythematosus ($p < 0.01$). The test was found to have a sensitivity of 96% and specificity of 95%. This is the first report evaluating serum canavanine in patients with SLE; therefore, it is not possible to compare results with other studies. **Conclusions:** These data suggest that measurement of serum L-canavanine may be useful in the diagnosis of systemic lupus erythematosus.

INTRODUCCIÓN

La L-canavanina es un aminoácido de origen vegetal no proteico que presenta propiedades antimetabólicas. Se encuentra principalmente en las leguminosas como en *Canavalia ensiformis*, donde se encuentra en forma libre en las semillas; también se encuentra en alfalfa, soya, garbanzo, lenteja, frijol común y otras. Las propiedades tóxicas de la canavanina se deben a que tiene una estructura similar a la arginina; por lo tanto, interfiere con el metabolismo de la arginina e inhibe la síntesis de proteínas. La canavanina se incorpora en las proteínas y también en la hélice del ADN y ARN en formación.¹ En monos alimentados con tallos de alfalfa se presentó anemia hemolítica y desarrollaron una enfermedad con las características del lupus eritematoso. En el suero sanguíneo de los monos se encontraron

anticuerpos anti-ADN, bajos niveles de complemento, disminución del número de eritrocitos y linfocitos; además, se encontraron depósitos de complemento en los riñones y la piel.²

Con esta información, y conociendo que la alfalfa contiene altas concentraciones de L-canavanina, surgió el interés por evaluar los niveles de L-canavanina en el suero de pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES) y también valorar si puede tener alguna utilidad como apoyo para el diagnóstico de la enfermedad o su monitoreo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizaron 100 muestras de sangre de personas clínicamente sanas para obtener los valores de referencia y 100 muestras de pacientes con LES, ambos con edades entre 12 y 40 años de

edad y de uno u otro sexo. El diagnóstico de la enfermedad se estableció con base en la clínica y en los estudios de laboratorio y gabinete. La determinación de L-canavanina se llevó a cabo con la técnica de Rosenthal.³ Los datos se presentan como media \pm desviación estándar (DE); $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativa. La sensibilidad diagnóstica y especificidad fueron analizadas mediante las gráficas características.

RESULTADOS

Los valores de L-canavanina obtenidos para personas clínicamente sanas fueron de 1.8 a 3.8 mg/dL, con una media de 3.1 mg/dL y desviación estándar 0.49; en los pacientes con LES, se encontraron valores de 3.8 a 16 mg/dL, con una media de 7.1 mg/dL, desviación estándar 2.6 y el valor de $p < 0.1$, lo cual es estadísticamente significativo (*cuadro I*). La prueba tiene una sensibilidad de 96%, con una especificidad de 95%. De los pacientes con LES, 93% tuvieron valores elevados de L-canavanina con respecto a las personas clínicamente sanas.

Cuadro I. Valores obtenidos de canavanina sérica en personas sanas y pacientes con lupus eritematoso sistémico.

Rango mg/dL	Frecuencia en sujetos sanos	Frecuencia en pacientes con LES
1.4-1.8	7	0
1.9-2.3	8	0
2.4-2.8	26	0
2.9-3.3	49	0
3.4-3.8	10	4
3.9-4.3	0	23
4.4-4.8	0	2
4.9-5.3	0	1
5.4-5.8	0	5
5.9-6.3	0	3
6.4-6.8	0	9
6.9-7.3	0	7
7.4-7.8	0	9
7.9-8.3	0	7
8.4-8.8	0	8
8.9-9.3	0	6
9.4-9.8	0	4
9.9-10.3	0	6
-----	---	---
13.0-13.6	0	6
15.0-16.0	0	3

DISCUSIÓN

El LES se describió por primera vez en el año 1822, y en 1851 se utilizó el nombre de «lupus eritematoso». Las respuestas inmunitarias anormales se observaron por primera vez en forma de reacciones VDRL falsas positivas, pero el concepto moderno de lupus eritematoso surgió con el descubrimiento de las células LE. Posteriormente, el reconocimiento de una predisposición genética aparentemente necesaria para contraer el LES representó otro paso importante hacia la comprensión de la enfermedad. Así, se ha visto que el lupus eritematoso es más frecuente –hasta 10 veces– en los familiares de los pacientes con LES que conviven en la misma casa en comparación con la población en general. Se ha demostrado asociación de la patología con antígenos HLA, DR2 y DR3 y con enfermedades hereditarias por deficiencia de complemento.^{4,5} Esta frecuencia del padecimiento en los familiares se explica porque todos ellos consumen los mismos alimentos; entre ellos, las leguminosas.

El lupus eritematoso es una enfermedad que resulta de una producción exagerada de autoanticuerpos que, a su vez, es el resultado de la interacción de factores genéticos, ambientales y hormonales. Entre los factores genéticos están algunos fenotipos de acetilación lenta en los cuales predomina el LES. De los factores ambientales, está la luz solar, que puede desencadenar el inicio de la enfermedad. La mayoría de los pacientes son mujeres; esto indica el papel de las hormonas. La predisposición genética también implica que son necesarios otros factores exógenos para que se manifieste la enfermedad. Entre estos están las reacciones a fármacos, que son de especial interés porque se ha observado que en algunas reacciones graves se producen anticuerpos antinucleares e, inclusive, el típico fenómeno celular de la enfermedad y los síntomas clínicos característicos de la patología, como sucede con la hidralazina.⁶ Los efectos colaterales de las drogas pueden ser directamente atribuidos a las diferencias del genotipo acetilador. Los acetiladores lentos tienden a producir fácilmente anticuerpos antinucleares cuando se les administra isoniazida o hidralazina, y también se observa en ellos una alta incidencia de lupus eritematoso. En una investigación hecha por Drager, se encontró que de 134 pacientes con LES, 104 fueron acetiladores lentos.⁷ En el LES producido por fármacos, las manifestaciones dermatológicas y articulares son frecuentes y, en cambio, las renales y neurológicas son raras.

Para confirmar el diagnóstico de LES, es necesario el análisis serológico de anticuerpos antinucleares (ANA), y sus niveles frecuentemente correlacionan con la actividad de la enfermedad. En un estudio hecho en 1,010 indivi-

duos con LES, se encontró para los ANA una sensibilidad de 93%, con una especificidad de 86%. Las personas sanas tienen títulos de ANA de 1:40 en 30% de los sujetos, 13% tiene títulos de 1:80 y 5% tiene títulos de 1:160; por lo tanto, los títulos de ANA 1:80 y 1:160 se consideran como negativos y los títulos de 1:320 o más confirman el diagnóstico de LES.⁸⁻¹¹

En los pacientes que presentan anticuerpos antihistona se han encontrado bajos niveles de acetiltransferasa hepática. Algunos autores han considerado que los anticuerpos antihistona junto con los ANA son un marcador altamente específico en 98% para hacer diagnóstico de LES, y se pueden usar para monitoreo serológico del LES.^{12,13}

Actualmente, todavía es difícil hacer un diagnóstico de LES debido a que se presentan diversas manifestaciones clínicas sin un cuadro clínico bien definido. Algunas de las lesiones causadas por la enfermedad son casi siempre irreversibles; por lo tanto, es importante hacer un diagnóstico temprano de la enfermedad. Aquí presentamos la determinación del aminoácido L-canavanina como una prueba de laboratorio que puede ser útil como apoyo para el diagnóstico temprano de la enfermedad. La L-canavanina se encuentra en algunas leguminosas que se consumen habitualmente en la dieta, principalmente las lentejas, el frijol común, habas, frijol de soya, germinados de alfalfa y de soya, que actualmente se consumen con mucha frecuencia. Estas leguminosas se consumen desde la infancia y, según se ha observado, se acumulan en el organismo humano, causando enfermedad en algunas personas cuando se consumen por tiempo prolongado. Por lo descrito en estudios anteriores, el metabolismo de la L-canavanina está estrechamente relacionado con los niveles de acetiltransferasa presentes en el hígado. Los acetiladores lentos tienden a producir ANA después de consumir L-canavanina durante dos a tres meses, y los acetiladores rápidos tienden a producir ANA después de dos años o más cuando se consume en grandes cantidades en forma de complementos alimenticios o en forma de tabletas que contienen alfalfa y/o proteína de soya.

Hay varios reportes de LES causado por el consumo de alfalfa, que se mencionan brevemente.^{14,15} Se registró anemia hemolítica autoinmune reversible en un hombre que estuvo ingiriendo diariamente de 80 a 100 gramos de semillas de alfalfa durante cinco meses. La anemia desapareció después de dejar de consumir las semillas de alfalfa.¹⁶ Por otra parte, se describieron dos casos de LES en dos personas que estaban consumiendo tabletas de alfalfa; a una familia que las estuvo usando durante siete años se le dio seguimiento, y se observaron títulos elevados de ANA; en algunos se diagnosticó LES. La mamá presentó artritis autoinmune y a una hermana se le detectó

sarcoidosis.¹⁷ Un joven de 23 años que estaba ingiriendo en grandes cantidades un complemento alimenticio que contenía alfalfa murió una semana después con falla hepática e insuficiencia renal. En una paciente femenina de 40 años de edad con LES inactivo controlada durante cuatro años tomando prednisona a una dosis de 15 mg/día, repentinamente aparecieron títulos elevados de ANA, crioglobulinas elevadas, niveles de complemento bajos y proteinuria. La mujer reportó que había estado ingiriendo 15 tabletas de alfalfa diarias los nueve meses previos. Otra persona de 50 años de edad mantenida en remisión con 10 mg de prednisona diarios por un periodo de 18 meses, repentinamente presentó títulos elevados de anticuerpos, sus crioglobulinas aumentaron y presentó glomerulonefritis proliferativa. La paciente informó que había estado ingiriendo ocho tabletas diarias de alfalfa durante más de un año. Los casos mencionados hacen pensar que posiblemente un buen número de individuos con enfermedades autoinmunes han consumido alfalfa. Al efectuar análisis de las tabletas de alfalfa por cromatografía líquida de alta presión y análisis colorimétrico, se encontraron altos niveles de L-canavanina.¹⁸

En ratas alimentadas con L-canavanina, se encontró que los ANA estimulan la síntesis de inmunoglobulinas, también la producción de anticuerpos anti-ADN de doble cadena y anticuerpos que producen daño glomerular.¹⁶ El consumo de L-canavanina genera una fuerte actividad antimetabólica; en su seguimiento en las vías metabólicas ha sido posible observar que se efectúa una transaminación de la canavanina con glicina, encontrándose cantidades abundantes de ácido guanidinosuccínico; además, la L-canavanina presenta hidrólisis por medio de la enzima arginasa, produciendo canalina y urea. En estudios efectuados con radioisótopos, se observó que parte de la canavanina se incorpora en las proteínas de ratón.¹⁹ La L-canavanina altera la producción de proteínas, inhibe el transporte de la arginina a través de las membranas, se incorpora a las nuevas cadenas de polipéptidos en el lugar de la arginina por acción de la enzima arginil-ribosintetasa. Esta sustitución resulta en la producción de proteínas aberrantes que alteran las reacciones metabólicas, la síntesis de ADN, de ARN y de otras proteínas.

El efecto tóxico de la administración de canavanina en ratas es más severo que en los monos, manifestándose como pérdida de pelo, fibrosis del páncreas, anticuerpos anti-ADN, eritropenia y disminución del crecimiento de los órganos en general.

Está bien reconocido que en el lupus eritematoso producido por fármacos no es común que se produzcan manifestaciones renales y neurológicas; en cambio, con

la administración de L-canavanina se ha observado daño renal; esto indica que la L-canavanina puede ser el factor desencadenante del LES. De acuerdo con los resultados obtenidos, se puede considerar que los valores de L-canavanina mayores de 3.9 mg/dL son diagnóstico de la enfermedad; la sensibilidad de la prueba es de 96% y la especificidad de 95%; estos valores son similares a los de los ANA mencionados anteriormente.

En la práctica diaria, uno de los retos que tiene el médico frente al paciente es establecer un diagnóstico, y quisiera tener una prueba de laboratorio 100% sensible y específica para corroborar un diagnóstico clínico. Sin embargo, esto es infrecuente en la consulta reumatológica. Aquí proponemos la determinación de L-canavanina en suero como una prueba de apoyo para hacer el diagnóstico de LES por su sensibilidad y buena especificidad (95%); no pretendemos que sustituya a la evaluación de los ANA, pero se puede utilizar como prueba de tamizaje.

Este es el primer estudio que evalúa la L-canavanina en muestras de individuos con lupus eritematoso sistémico; por lo tanto, es necesario seguir investigando sobre este tema para descubrir la importancia de este hallazgo y confirmar la utilidad de evaluar el aminoácido L-canavanina para el diagnóstico, monitoreo y tratamiento del lupus eritematoso sistémico.

REFERENCIAS

1. Thomas DA, Rosenthal GA. Toxicity and pharmacokinetics of the non-protein amino acid L-canavanine in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1987; 91: 395-405.
2. Malinow MR, Bardana EJ Jr, Pirofsky B et al. Systemic lupus erythematosus-like syndrome in monkeys fed alfalfa sprouts, role of a non protein amino acid. *Science.* 1982; 216 (4544): 415-417.
3. Rosenthal GA. Preparation and colorimetric analysis of L-canavanine. *Anal Biochem.* 1977; 77 (1): 147-151.
4. Ruiz BE, Suarez RJT. Lupus eritematoso sistémico. *Acta Med.* 1992; 28: 93-102.
5. Rahman A, Isenberg DA. Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med.* 2008; 358: 929-939.
6. Zacharias W, Koopman WJ. Lupus-inducing drugs alter the structure of supercoiled circular DNA domains. *Arthritis Rheum.* 1990; 33 (3): 366-374.
7. Drayer DE, Reidenberg MM. Clinical consequences of polymorphic acetylation of basic drugs. *Clin Pharmacol Ther.* 1977; 22 (3): 251-258.
8. López HM, Almeida GD, Julia BMR et al. ¿Anticuerpos antinucleares o anticuerpos frente a ciertos antígenos nucleares? *Inmunología.* 2012; 31: 192-194.
9. Enríquez MMG. Fisiopatología del lupus eritematoso sistémico. *Rev Med Inv.* 2013; 01: 8-15.
10. Brian BA, Matasim DF. Importancia diagnóstica de la determinación de los anticuerpos antinucleares. *Int J Dermat.* 2000; 39: 887-891.
11. Quintana LG, Fernandez AA, Felix RJ et al. Aplicación clínica de los anticuerpos en lupus eritematoso sistémico. *Rev Colombiana de Reumatología.* 2003; 10: 32-45.
12. Tan EM. Antinuclear antibodies: diagnostic markers for autoimmune diseases and probes for cell biology. *Adv Immunol.* 1989; 44: 93-151.
13. Schett G, Smole J, Zimmermann C et al. The autoimmune response to chromatin antigens in systemic lupus erythematosus: autoantibodies against histone H1 are a highly specific marker for SLE associated with increased disease activity. *Lupus.* 2012; 11 (11): 704-715.
14. Jang MH, Jun DY, Rue SW. Arginine antimetabolite L-canavanine induces apoptotic cell death in human Jurkat T cells via caspase-3 activation regulated by Bcl-2 or Bcl-xL. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002; 295 (2): 283-288.
15. Putterman C, Deocharan B, Diamond B. Molecular analysis of autoantibody response in peptide-induced autoimmunity. *J Immunol.* 2000; 164 (5): 2542-2549.
16. Prete PE. The mechanism of action of L-canavanine in inducing autoimmune phenomena. *Arthritis Rheum.* 1985; 28 (10): 1198-1200.
17. Robert JL, Hayashi JA. Exacerbation of SLE associated with alfalfa ingestion. *N Eng J Med.* 1983; 308 (22): 1361.
18. Alcocer VJ, Iglesias A, Lorante L et al. Effects of L-canavanine on T cells may explain the induction of systemic lupus erythematosus by alfalfa. *Arthritis Rheum.* 1985; 28 (1): 52-57.
19. Thomas DA, Rosenthal GA. Metabolism of L-[guanidinooxy-¹⁴C] canavanine in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1987; 91 (3): 406-414.