

ARTÍCULO ORIGINAL

Evaluación del aminoácido L-canavanina en semillas y vegetales de consumo humano

Evaluation of amino acid L-canavanine in seeds and legumes for human consumption

Eliseo Ruiz-Bedolla,^{a*} Briceida López-Martínez,^a Rosa María Hernández-Alvarado,^a Israel Parra-Ortega^a

Recibido: 26 de septiembre de 2019

Aceptado: 28 de octubre de 2019

PALABRAS CLAVE:

L-canavanina;
Legumbres;
Insuficiencia renal;
Lupus eritematoso.

RESUMEN

Introducción: Las leguminosas contienen altas concentraciones de aminoácidos no proteicos, los cuales son tóxicos para los animales debido a que se incorporan en las cadenas de péptidos en lugar de los aminoácidos homólogos. Cuando se alimentó a chimpancés con tallos de alfalfa presentaron anemia hemolítica y lupus eritematoso; en ratas alimentadas con L-canavanina se produce un daño mayor afectando el crecimiento de algunos órganos y su desarrollo total; además, en el suero sanguíneo de ambos animales se encontró el aminoácido L-canavanina, anticuerpos antinucleares, se observó leucopenia, eritropenia y se depositaron complejos inmunes en la membrana basal del glomérulo renal.

Objetivo: Conocer los niveles de L-canavanina en algunos vegetales y semillas de consumo humano frecuente para posteriormente correlacionar su consumo con la presencia de alguna enfermedad.

Material y métodos: Se evaluaron las semillas de lentejas, frijol negro, frijol amarillo, habas secas, garbanzo, alfalfa, alverjón, habas verdes y los siguientes vegetales: epazote, perejil, cilantro, berros, rábano, col, coliflor, apio, berenjena, lechuga, tomate verde, chile poblano, ejotes, alfalfa, germen de alfalfa y germen de soya. Se utilizó una muestra de 10 g de cada una y se procesaron de acuerdo con la técnica de Rosenthal.

Resultados: Todas las semillas estudiadas contienen L-canavanina, desde el alverjón con 0.64g% hasta la alfalfa con 2.40g%. En vegetales solamente contienen L-canavanina: alfalfa 1.30g%, germen de alfalfa 1.48g%, germen de soya 1.10g%, chile poblano 0.23g%, habas verdes 0.88g%, rábano 0,20g% y berros 0.05g%, únicamente.

Conclusiones: Se confirmó la presencia de L-canavanina en las semillas analizadas y en algunos vegetales de consumo frecuente.

^a Hospital Infantil de México "Federico Gómez", México.

*Autor para correspondencia: helix@prodigy.com.mx

KEY WORDS:

L-canavanine;
Legumes; renal
Insufficiency;
Lupus
erythematosus.

ABSTRACT

Introduction: The Leguminous seeds contain high quantities of nonprotein amino acids that are toxic for animals because they are incorporated in peptide chains in the same place of amino acid homologues. Some monkeys were fed with alfalfa sprout and were observed to have hemolytic anemia and lupus erythematosus; in rats the damage is higher affecting growth of some organs and total development. Furthermore in blood serum of both animals were found canavanine, antinuclear antibody, leukocytes and red blood cells decreased and deposits of immune complex in glomerular basement membrane.

Objective: This study aims to know the levels of L-canavanine in some legumes and food seeds for the human diet to then correlate their intake with the presence of some disease.

Material and methods: We evaluated seeds of lentils, black bean, yellow bean, broad bean, chick pea, alfalfa and vegetables analyzed were: Mexican tea, parsley, coriander, winter cress, radish, cabbage, cauliflower, celery, eggplant, lettuce, green tomato, poblano chili, green beans, alfalfa, alfalfa germ and soya germ. Samples of 10g of each one were analyzed according to Rosenthal's technique.

Results: All seeds studied contain L-canavanine from chick pea with 0.64g% up to alfalfa with 2.40g%. The vegetables that contain L-canavanine are alfalfa 1.30g%, alfalfa germ 1.48g%, soya germ 1.10g%, poblano chili 0.28g%, string bean 0.88g%, radish 0.20g% and water cress 0.05g% only.

Conclusions: The presence of L-canavanine was shown in seeds studied and some vegetables of human diet.

INTRODUCCIÓN

Los hongos y las plantas superiores contienen una gran variedad de aminoácidos no proteicos, la presencia de estos aminoácidos es normal en las plantas, pero pueden presentar actividad toxigénica para otras formas de vida. Los aminoácidos vegetales tienen una estructura química similar, tamaño, forma y carga como los aminoácidos de origen animal y son erróneamente utilizados en la síntesis de proteínas, interfieren en los procesos bioquímicos y estimulan receptores o atrapan iones metálicos (quelación).¹ Entre los aminoácidos vegetales está la L-canavanina, que es un aminoácido no proteico y se encuentra en forma libre en las semillas de *Canavalia ensiformis* y también se ha encontrado en alfalfa, frijol de soya, cebolla y algunos hongos.²⁻³

Algunos autores observaron que un 60% de aproximadamente 540 especies de leguminosas contienen L-canavanina, principalmente en las leguminosas de la subfamilia Papilionidae. Algunas leguminosas que pertenecen a esta subfamilia son las

siguientes: tréboles, alfalfa, limoncillo, haba, frijolillo, colorín y frijol común. El efecto que ejerce la canavanina en la dieta como factor antinutricional es debido a que es un aminoácido antagonista de la arginina en la síntesis de proteínas. La L-canavanina presente en la alfalfa fue la sospechosa de ser la causante de producir la enfermedad. Posteriormente se reportaron varios casos de inducción o exacerbación de los debidos a la ingesta de tabletas de alfalfa.

La L-canavanina es un análogo de la arginina; su función natural en las leguminosas es la defensa química contra insectos y otros herbívoros. Este hecho inspiró un lote de estudios sobre sus propiedades antimetabólicas, antibacteriales y antivirales. Por otra parte, en ratas alimentadas con una dieta a base de canavanina presentaron alteración de la respuesta inmune y junto con otras alteraciones afecta el desarrollo total, así como el crecimiento de algunos órganos y además se depositaron complejos autoinmunes en la membrana basal del glomérulo renal.⁴⁻⁷ El consumo de alfalfa en el hombre también puede inducir insuficiencia renal y LES.⁶

La L-canavanina es un sustrato para la enzima arginasa, y al ser metabolizada produce urea, ácido guanidinoacético y canalina; esta última al ser inyectada en ratas produce insuficiencia renal y se detectan altos niveles de ornitina en la sangre. La L-canavanina se halló en el suero sanguíneo de las ratas y de chimpancés alimentados con alfalfa; también se encontraron anticuerpos contra DNA y se observó disminución del número de linfocitos y eritrocitos. En un estudio previo hecho en leucocitos de pacientes con insuficiencia renal crónica se encontraron niveles elevados de L-canavanina en comparación con los niveles encontrados en sujetos sanos y posteriormente en otro estudio hecho en pacientes con insuficiencia renal se observaron altos niveles de canavanina en el suero sanguíneo en el 95% de los pacientes.⁷⁻⁸ Con los datos anteriores, surgió el interés de conocer los valores del aminoácido L-canavanina en las semillas y vegetales que se consumen con más frecuencia en la dieta humana y observar si está presente en la sangre de las personas que los consumen.

Las enfermedades renales cada vez son más frecuentes en varios países; su tratamiento es difícil y generalmente llega hasta la aplicación de diálisis, lo cual implica una pesada carga financiera para las instituciones de salud. Habitualmente cuando se hace el diagnóstico de insuficiencia renal, la enfermedad se encuentra en estado avanzado y los daños que presenta el riñón son irreversibles. Dicha situación justifica plenamente esta investigación con la intención de incrementar los conocimientos sobre la etiología de la insuficiencia renal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudiaron los vegetales y semillas que se consumen con más frecuencia en la dieta diaria del hombre. Las semillas estudiadas fueron: lentejas, frijol negro, frijol amarillo, haba seca, garbanzo, alfalfa, alverjón, habas verdes y en los vegetales se incluyeron legumbres, que no son leguminosas como son: calabaza, cilantro, berros, rábano, chícharo, col, coliflor, apio, berenjena, lechuga, tomate verde, epazote, perejil y chile poblano y las leguminosas estudiadas fueron: germen de alfalfa, ejote, alfalfa y germen de soya.

De los vegetales se tomó una muestra de 10 g de cada uno, después se procedió a desengrasar la muestra con xilol durante 5 horas, posteriormente se eliminó el solvente y se dejó secar a temperatura ambiente con el objeto de eliminar totalmente el xilol y después se procedió a hacer la extracción con HCl 0.1M. Se llevaron a cabo 2 extracciones cada una de ellas con 10 ml. La extracción se hizo en un

mortero moliendo la muestra hasta obtener una mezcla homogénea. Las dos extracciones se juntaron y se dejaron con el HCl durante 24 horas, después se filtraron y centrifugaron a 5000 rpm durante 10 minutos para hacer la evaluación del aminoácido de acuerdo con la técnica de Rosenthal.⁹

Para las semillas secas se pesaron 10 g y se molieron hasta obtener un polvo fino y para eliminar la humedad se dejó secar en una estufa a 40 °C durante 7 días; después se procedió igual como en los vegetales. El sobrenadante de cada una de las muestras se ajustó el pH con hidróxido de sodio 0.1M hasta obtener un pH de 7.0, y posteriormente se hizo la determinación de L-canavanina de acuerdo con la técnica de Rosenthal.

Criterios de inclusión y exclusión

Para este estudio se incluyeron todas las verduras y semillas de consumo frecuente aunque no sean leguminosas considerando que el aminoácido también se puede encontrar en otros vegetales que no son leguminosas. Los criterios de exclusión fueron no incluir vegetales que su consumo fuera esporádico.

Análisis estadístico

No aplica.

RESULTADOS

Los resultados se presentan en la tabla 1, donde se observa que todas las semillas analizadas contienen L-canavanina, encontrando la concentración más alta en semilla de alfalfa 2.40g% y la menor en semillas de alverjón 0.64g%. De los vegetales analizados, solamente se presentó en concentraciones elevadas en las leguminosas en alfalfa 1.30g%, en germen de alfalfa 1.48g% y germen de soya 1.10g%; también se encontró en chile poblano 0.23g%, rábano 0.20g% y berros 0.05g%; solamente se presentan las legumbres que contienen canavanina. Los demás: cilantro, calabaza, col, coliflor, apio, berenjena, lechuga, tomate verde, epazote y perejil no contienen canavanina. Cada muestra se analizó por triplicado y en tres días diferentes y se observó que no hubo variación de resultados.

Tabla 1. Semillas y vegetales de consumo humano que contienen L-canavanina leguminosas

SEMILLAS SECAS	L-CANAVANINA
Nombre común	g%
Alfalfa	2.40
Lentejas	1.00
Habas	1.00
Frijol Amarillo	0.83
Frijol Negro	0.78
Garbanzo	0.69
Alverjón	0.64
Vegetales	
Germen de Alfalfa	1.48
Alfalfa	1.30
Germen de Soya	1.10
Habas Verdes	0.88
Chicharos	0.54
No Leguminosas	
Chile Poblano	0.23
Rabano	0.20
Berros	0.05

Fuente: elaboración propia.

DISCUSIÓN

Hay una serie de sustancias o alimentos que son inocuos para la población en general, pero son tóxicas para algunas personas. El consumo de algunas semillas o vegetales que contienen L-canavanina influye en algunas personas como un factor desen-

cadena de algunas enfermedades o como factor exacerbante dependiendo de la cantidad consumida y el tiempo de ingestión. La toxicidad de la canavanina se debe a que altera la síntesis de proteínas y entre éstas se altera la síntesis de la colágena. Al sustituir un aminoácido no proteico en la síntesis de proteínas se sintetizan proteínas anormales, lo que en un principio genera anticuerpos y cuando tiene un papel importante en el sitio activo de una enzima, esto resulta en la pérdida de la actividad de la enzima; alternativamente se producen cambios conformacionales debido a la sustitución de un aminoácido resulta en una pérdida de la función o alteración en la solubilidad. La L-canavanina es una molécula menos básica que la arginina, el pK del grupo guanidooxi es 7.04 vs. 12.48 del grupo guanido en la arginina y esto puede impactar fuertemente en la función y estructura de la proteína y la salud y función del organismo. La basicidad reducida de la L-canavanina con respecto a la arginina produce proteínas alteradas e inactivación de enzimas ejerciendo efectos tóxicos en muchas especies.¹⁰⁻¹¹ La sustitución de un aminoácido proteico por un aminoácido no proteico tiene semejanza a una mutación en la cual la sustitución de una sola base en el DNA codifica otro aminoácido proteico en la cadena de polipéptidos. Esto ha sido demostrado por análogos de los aminoácidos fenilalanina, tirosina y triptofano. La Azetidina-2-carboxilico ácido inhibe la biosíntesis de prolina desde glutamato por inhibición de retroalimentación. Ha sido observado que la cantidad de canavanina que se incorpora en las proteínas es igual a la cantidad de arginina; la sustitución ocurre en todas las proteínas que contienen arginina.

Por otra parte ha sido observado que la enzima arginil-RNA sintetasa, fácilmente incorpora L-canavanina en las cadenas de polipéptidos nacientes, de esta manera la sustitución de la arginina por L-canavanina resulta una proteína alterada estructuralmente. La L-canavanina tiene un efecto adverso cuando actúa como antagonista de la arginina, se incorpora en el núcleo de la célula; además interfiere en la hélice del DNA y del RNA en formación.¹²⁻¹³ El efecto tóxico se presenta cuando se tiene un alto contenido del aminoácido en la sangre y su ingestión es por tiempo prolongado; así en los monos alimentados con alfalfa la enfermedad apareció después de 7 meses y al suprimir la ingesta de alfalfa desaparecieron los síntomas de la enfermedad.¹⁴ Cuando se administró harina de *canavalia ensiformis* a cerdos en crecimiento, estos redujeron drásticamente su crecimiento en comparación con el grupo control. Las propiedades farmacológicas y fisiológicas de la canavanina son de gran importancia porque se presentan un rango

de afección en diferentes niveles según el organismo; así el efecto tóxico observado en monos alimentados con semillas de alfalfa estos adquieren anemia hemolítica y en el suero se observan bajos niveles de complemento. En ratas la administración de L-canavanina su efecto tóxico es más severo; el aminoácido se incorpora en los tejidos de los órganos como son el bazo, corazón, pulmones, glándulas salivales y cerebro; también se observa pérdida de pelo; en cortes histológicos de páncreas se observa fibrosis y daño en las células acinares, sitio donde se sintetizan las enzimas digestivas, además se produce daño en los glomérulos renales en ratones normales.¹⁵

Los productos de degradación de la canavanina son: homoserina que es un análogo de la citrulina, canalina que es un análogo de la ornitina y ácido canavaninsuccinico que es un análogo del ácido argininsuccinico.¹⁶ Los compuestos antes mencionados pueden competir o entrar como sustitutos en las vías metabólicas de los organismos procariotes y eucariotes. En ratas, la canavanina es hidrolizada por la enzima arginasa dando como productos canalina y urea. La membrana basal del glomérulo renal está constituida por colágena y se ha observado que en ésta se depositan complejos autoinmunes, por lo tanto es posible que se encuentre incluida la canavanina en la proteína de la membrana basal del glomérulo renal de tal manera que al incluirse la canavanina en la colágena, esta pierde su funcionalidad debido a que la polaridad de la canavanina es diferente a la de arginina y posiblemente a esto se debe que pase albumina de la sangre hacia la orina observándose proteinuria y también la presencia de anticuerpos que se unen a la membrana basal glomerular.¹⁶⁻¹⁷ Basados sobre estos efectos de la alfalfa en animales, se hizo un estudio en humanos; sin embargo, un voluntario de 59 años de edad que ingirió diariamente 80 gramos de semillas de alfalfa durante 6 semanas desarrolló esplenomegalia, pancitopenia, coombs positivo, anemia hemolítica, anticuerpos antinucleares (ANA) e hipocomplementemia. Al suspender la ingestión de semillas, el bazo regresó a su tamaño normal y las demás anomalías retornaron a lo normal. En otros reportes se observó en personas que han tomado diariamente de 12 a 24 tabletas de alfalfa hasta por 7 meses presentaron artralgias, mialgias y ANA; estos síntomas y los ANA desaparecieron completamente al suspender la ingesta de las tabletas de alfalfa.⁶ Por otra parte, se evaluaron los niveles de canavanina en suero de pacientes con LES encontrando niveles elevados en comparación con las muestras de sujetos sanos por lo que se considera que la canavanina puede ser la causante de la enfermedad.¹⁸

Por lo anterior nos interesó conocer la concentración de canavanina en algunas semillas y vege-

tales que se consumen con frecuencia en la dieta humana. De las semillas estudiadas, todas presentan un alto contenido de L-canavanina de 0.64 g% hasta 2.4g%.

A excepción de las semillas de alfalfa, las demás semillas se consumen con frecuencia en la dieta del hombre; y los vegetales estudiados que contienen canavanina son germen de alfalfa, germen de soya, habas verdes y chicharos con una concentración de 0.54 g% hasta 1.30 g% y los que no contienen L-canavanina son calabaza, cilantro, ejotes, col, apio, berenjena, tomate verde, epazote y perejil. Estas leguminosas se consumen desde la infancia y se ha observado que la canavanina se acumula en el organismo humano causando enfermedad cuando se consumen por tiempo prolongado.⁵

Se considera que un plato de frijoles contiene aproximadamente 25 g de estos; por lo tanto esto equivale a estar consumiendo unos 200 mg de canavanina diariamente.

CONCLUSIONES

Considerando la información anterior y con los resultados obtenidos, se concluye que sería conveniente conocer los niveles sanguíneos de L-canavanina en una población grande de sujetos sin enfermedad alguna para obtener los valores de referencia y después en pacientes que presenten alguna patología renal y también en los que padecen lupus eritematoso para poder confirmar que la L-canavanina puede ser un factor desencadenante de alguna de estas enfermedades y en caso necesario prohibir a los enfermos el consumo de alimentos que contengan L-canavanina. Por otra parte, sería conveniente hacer estudios sobre otros aminoácidos vegetales, no proteicos que se ingieren en la dieta del hombre y que seguramente pueden tener efectos indeseables en el organismo humano y así posiblemente se pueda detectar el origen de otras enfermedades como se ha observado con el consumo de L-canavanina.

Financiamiento:

No se recibió ningún patrocinio para llevar a cabo este artículo.

Conflicto de intereses:

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

REFERENCIAS

1. Rosenthal GA, Lambert J, Hoffman D. Canavanine incorporation into other antibacterial proteins of the fly, *Phormia terranova* and its effect on biological activity. *J Biol Chem.* 1989; 264: 9768-9771.
2. Norst EG, Exner MP, De Simone A, et al. Cell-free expression with the toxic amino acid canavanine. *Bioorg Med Chem Lett.* 2015; 06: 1-3.
3. Laurena AC, Jamela MA, Revilla HR, et al. Polyphenols, phytate cyanogenic glycosides and trypsin inhibitor activity of several philippine indigenous food legumes. *J Food Composition Annal.* 1994; 7: 194-202.
4. Yang TT, Niu HS, Chen LJ, Ku PM, Lin KC, Cheng JT. Canavanine induces insulin release via activation of imidazoline I3 receptors. *Clin Exp Pharm Physiol.* 2015; 42: 263-268.
5. Thomas DA, Rosenthal GA. Toxicity and pharmacokinetics of the nonprotein amino-acid L-canavanine in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1987; 19: 395-405.
6. Robert IJ, Hayashi AJ. Exacerbation of systemic lupus erythematosus associated with alfalfa ingestion. *Eng. J. Med.* 1983; 308:1361.
7. Ruiz BE, López MB. L-canavanina en leucocitos de pacientes con insuficiencia renal. *Nefrología Mex.* 2013; 34: 40-43.
8. Ruiz BE, Lopez MB, Parra IO. Evaluation of serum canavanine as support in the diagnosis of chronic kidney disease. *Indian JAR.* 2018; 8: 39-41.
9. Rosenthal GA. Preparation and colorimetric analysis of L-canavanine. *Anal. Biochem.* 1977; 77:147-151.
10. Prete EP. The mechanism of action of L-canavanine inducing autoimmune phenomena. *Arthritis Rheum.* 1985; 28: 1198-1200.
11. Rosenthal GA. Metabolism of L-canavanine and L-canaline in leguminous plants. *Plant Physiol.* 1990; 94: 1-34.
12. Hollander MM, Horner WH, Cooper AJL. Conversion of canavanine to alfa-ceto--gamma-guanidinoxibutirato and to vinylglyoxilato and 2-hidroxi-guanidina. *Arch Biochem Biophys.* 1989; 270: 698-713.
13. Zacharias W, Koopman WJ. Lupus inducing drugs alter the structure of supercoiled circular dna domains. *Arthritis Rheum.* 1990; 33: 366-374.
14. Malinow MR, Bardana EJ, KcLaughin P. Systemic lupus erythematosus-like syndrome in monkeys fed alfalfa sprouts role of non-protein amino acid. *Science.* 1982; 216: 415-417.
15. Thomas AD, Rosenthal AG. Metabolism of L-(guanidinoxi-14c) canavanine in therat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1987; 91: 406-414.
16. Rosenthal GA, Berge MA. Catabolism of L-canavanine and L-canaline in the jack bean, *canavalia ensiformis*. *J Agric Food Chem.* 1989; 37: 591-595.
17. Ruiz BE, López MB, Benavides BA, Parra IO. Canavanina sérica un marcador más sensible de la función renal que la creatinina sérica. *Nefrología Mex.* 2015; 36: 142-144.
18. Ruiz BE, López MB, Parra IO. Evaluación del aminoácido L-canavanina en suero de pacientes con lupus eritematoso.sistemico. *Rev. Latinoam Patol Clin Med. Lab.* 2016; 63: 87-90.