

# 26. Aminoácidos

Isaac Túnez Fiñana

*Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Medicina, Universidad de Córdoba, Avda. Menéndez Pidal s/n, 14004 – Córdoba*

## RESUMEN

**Veinte son los aminoácidos constitutivos y piezas básicas de las proteínas. Éstas son constituyentes esenciales de todos los organismos, ejerciendo las funciones más nobles y elevadas dentro de la célula. El presente capítulo tiene como objetivo principal exponernos conceptos básicos sobre estas unidades de las proteínas y sus diferentes reacciones químicas, así como mostrarnos su implicación en la patología médica.**

*Palabras Clave:* Aminoacidurias, reacciones coloreadas

## 1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Los aminoácidos son las unidades constituyentes de las proteínas, biomoléculas estas últimas de interés en las organizaciones estructurales y funcionales de células y tejidos. Téngase en cuenta que todas las enzimas, fundamentales para las reacciones bioquímica, y todos los anticuerpos, esenciales en los procesos de inmunidad, son proteínas y se encuentran por tanto constituidos por aminoácidos.

La hidrólisis de proteínas por los diferentes métodos (ácida, básica o enzimática) proporciona 20 aminoácidos (alanina, prolina, lisina, ácido aspártico, ácido glutámico, asparagina, glutamina, histidina, glicina, serina, valina, tirosina, triptofano, fenilalanina, treonina, isoleucina, leucina, cisteína, metionina y arginina) como constituyentes universales de las proteínas. Éstos se distribuyen en esenciales (fenilalanina, leucina, lisina, metionina, isoleucina, treonina, triptófano y valina; aminoácidos esenciales en niños, arginina e histidina) que deben ser suministrados por la dieta, y los no esenciales.

Existen otros aminoácidos no proteicos que aparecen en ciclos pero no forman parte de la estructura proteica, como es el caso de la ornitina, citrulina, 3-metilhistidina, GABA, L-azaserina, homoserina, homocisteína, etc. Se conocen alrededor de 150.

Los aminoácidos desde el punto de vista químico son ácidos orgánicos (R-COOH), portadores de un grupo amino (-NH<sub>2</sub>) y un radical variable R. Según la naturaleza del grupo R los aminoácidos pueden ser clasificados en cuatro grandes grupos: apolares, polares sin carga, aniónicos y catiónicos.

El objetivo del presente tema estará dirigido a clarificar los conceptos relacionados con estas moléculas, así como a entender su importancia clínica y a realizar técnicas destinadas a su identificación.

## 1.2. Metabolismo de aminoácidos y afecciones relacionadas

Una enfermedad genética es una afección mórbida provocada por una variación del material genético humano. La enfermedad se produce cuando se lleva a cabo la mutación en un solo gen en forma espontánea o hereditaria. Si ésta se expresa, el gen mutante da lugar a la síntesis de una proteína anormal o altera el nivel de producción de una proteína.

### 1.2.1. Aplicaciones Clínicas

Por definición los errores congénitos del metabolismo incluyen defectos que se encuentran en enzimas y que interrumpen vías fisiológicas. Con esta interrupción, se siguen tres cursos:

- Exceso de precursores tóxicos
- Exceso de metabolitos tóxicos
- Deficiencia de metabolitos esenciales

Los errores congénitos del metabolismo de aminoácidos provocan aminoaciduria o incremento de aminoácidos en la orina. Las aminoacidurias son renales o de desbordamiento:

\* Aminoacidurias renales. Identificadas por tasas plasmáticas normales de aminoácidos y elevación de su presencia en orina. Este fenómeno se debe a una reducción en la capacidad de reabsorción de los túmulos renales

\* Aminoacidurias por desbordamiento. Elevación de aminoácidos en plasma y en orina

**Cistinuria.** Los individuos excretan mayores cantidades de cistina, lisina, arginina y ornitina. El defecto parece localizarse en la proteína de transporte que se encuentra en la membrana de ciertos tipos de células epiteliales.

La única manifestación de la enfermedad es la formación de cálculos renales que se produce durante la niñez y alcanza su máximo nivel en la tercera década de la vida. Se trata de una aminoaciduria renal.

**Cistinosis.** Es la afectación del almacenamiento de lisosomas que generalmente se debe a un defecto en el proceso de transporte para el paso de cistina a través de las membranas del lisosoma. Se producen manifestaciones sistémicas graves debido a los precipitados, que afectan a diversos órganos (riñón, hígado y bazo) así como a los tejidos de la médula ósea, ganglios

linfáticos y córnea ocular. Se trata de una aminoaciduria renal. Esta suele ser una de las causas del síndrome de Fanconi.

**Síndrome de Hartnup.** Se encuentra incrementada la excreción urinaria de alanina, treonina, glutamina, serina, asparagina, valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, tirosina, triptofano, histidina y citrulina. Fenómeno que origina una aminoaciduria renal.

Estos pacientes manifiestan erupciones escamosas de color rojizo que aparecen durante la primera década de la vida. También presentan manifestaciones neurológicas como dolor de cabeza, falta de concentración, debilidad de los miembros y ataxia. Se caracteriza por una aminoaciduria renal.

**Fenilcetonuria.** Grupo de afecciones caracterizadas por defectos en la conversión de fenilalanina a tirosina, debidos a la deficiencia de la enzima fenilalanina hidroxilasa. Lo anterior causa la acumulación de elevadas concentraciones de fenilalanina y sus metabolitos, los ácidos feniláctico, fenilpirúvico y fenilacético. Se trata de un trastorno hereditario de carácter autonómico recesivo. Se diagnostica durante la lactancia y produce (en caso de no recibir tratamiento a tiempo) retraso mental grave. Los síntomas tempranos que pueden ser observados:

- Dificultad para ingestión de alimento
- Vómito
- Retraso en el desarrollo
- Hipopigmentación

Al tercer-cuarto día de vida extrauterina los niveles séricos de fenilalanina comienzan a incrementar. El aumento en fenilacético provoca que el sudor y la orina tengan un olor a ratón o a rancio. Si la enfermedad no se trata a tiempo se manifiestan los trastornos neurológicos a los tres meses y alcanza su máxima expresión a los tres años de edad. La restricción dietética de fenilalanina evita el retraso mental. En general, los análisis neonatales se llevan a cabo mediante la prueba de Guthrie, que es un análisis microbiológico semicuantitativo. Esta prueba se basa en que la presencia de fenilalanina evita la inhibición de beta-2-tienilalanina en la bacteria *Bacillus subtilis*, fenómeno que permite el crecimiento de ésta. La sangre del recién nacido se obtiene del talón y se coloca sobre papel de filtro. El disco se pone en medio de cultivo que contiene beta-2-tienilalanina inoculada con esporas de *B. subtilis*. Tras una noche de incubación se comparan las zonas de crecimiento con discos control. Si la prueba de Guthrie indica un aumento de fenilalanina, se realiza una prueba de confirmación. La aminoaciduria provocada por este proceso es de desbordamiento.

**Tirosinosis y Tirosinemia.** Tirosinosis. Caracterizada por elevados niveles de tirosina en la sangre y en la orina. Los principales síntomas clínicos se encuentran relacionados con daño hepático y renal. La lesión hepática conduce a un fallo agudo o a un estado crónico que origina una cirrosis, por su parte, la disfunción renal ocasiona el síndrome de Fanconi.

Tirosinemia. Caracterizada por la precipitación de cristales de tirosina que conducen a la inflamación y posterior lesión a nivel ocular y cutáneo. En ciertos casos ha sido documentado un retraso mental.

En ambas situaciones se origina una aminoaciduria por desbordamiento.

**Alcaptonuria.** Caracterizada por excreción urinaria de ácido homogentísico. La única manifestación de la alcaptonuria en niños pequeños es el fenómeno de que la orina se oscurece al contacto con el aire, incorporación de un álcali y exposición a la luz solar. Esta situación persiste durante toda la vida y en general no produce consecuencias aparentes. Induce una aminoaciduria de desbordamiento.

**Enfermedad de la orina color maple (olor a jarabe de arce, miel de maple).**

Se trata de una cetoaciduria de  $\alpha$ -cetoácidos e hidroxiaácidos procedentes de aminoácidos con cadenas ramificadas (leucina, Isoleucina, valina).

En caso de no ser detectada o no poner el tratamiento temprano produce daño cerebral grave y generalmente la muerte durante el curso del primer año de vida. Los síntomas que pueden observarse son entre otros: hipoglucemia, acidosis, letargo, falta de apetito, vómito y convulsiones. Conduce a una aminoaciduria por desbordamiento.

**Homocistinuria.** Caracterizada por el aumento de homocistina en el organismo. Los síntomas se manifiestan tras el nacimiento, uno de los más frecuentes es la dislocación de la lente ocular. También, se presentan anomalías mentales y en su conjunto los diferentes daños asociados a este tipo de trastorno conducen a la muerte. La aminoaciduria observada en este trastorno es del tipo de desbordamiento.

**Albinismo.** Se debe a la ausencia de la enzima tirosinasa que permite el paso de tirosina a melanina. Induce una aminoaciduria de desbordamiento.

### 3. LISTADO DEL MATERIAL MATERIAL NECESARIO

- Agua destilada
- Arginina
- Aspártico
- Baño María
- Calculadora
- Cisteína
- Lisina
- Ninhidrina
- Pipetas 1 – 5 mL
- Prolina
- Tubos de ensayo

## 4. PROTOCOLOS A REALIZAR

### 4.1. Reacciones de los aminoácidos

#### 4.1.1. Prueba de la ninhidrina

Reacción para la detección de aminoácidos, actualmente acoplada a sistemas de valoración automática. La ninhidrina (hidrato de tricetohidrindeno) es un oxidante energético que por una desaminación oxidativa de los aminoácidos conduce a la formación del aldehído correspondiente, con liberación de amoniaco y gas carbónico y formación de la ninhidrina reducida o hidrindantina. La molécula de hidrindantina, en presencia de otra de ninhidrina, condensa a través del amoniaco produciendo una estructura denominada indanona o púrpura de Ruhemann, manifestando un color rojizo, excepto para la prolina, hidroxiprolina y en menor medida para la histidina. Presenta su máximo de absorbancia a los 570 nm, exceptuando los tres aminoácidos reseñados anteriormente.

- Añadir 2ml de:
  - \* Lisina 0,5%
  - \* Aspártico 0,5%
  - \* Prolina 0,5%
- Incorporar 2 ml de ninhidrina 0,2% en etanol 95%
- Calentar al baño maría
- Observar los resultados

#### 4.1.2. Prueba del ácido nitroso

- Tomar 1 ml de:
  - \* Problema
  - \* Patrón al 1%
  - \* Blanco de agua destilada
- Incorporar 0,5 ml de ácido clorhídrico concentrado.
- Añadir 1 ml de nitrito sódico al 5%
- Observar los cambios

**Nota:** Si se desprenden burbujas indica presencia de grupos amino libres y por lo tanto la reacción es positiva.

#### 4.1.3. Prueba de Millon

Ensayo específico para los aminoácidos fenólicos (tirosina). Esta reacción da una tonalidad rosa o un precipitado rosa.

- Poner 3 mL de tirosina 0,02%

- Añadir 4 gotas de reactivo de Millon (10 g de mercurio en 10 mL de ácido nítrico fumante. Se le incorpora 40 ml de agua y se deja reposar. Finalmente se decanta.)

**Nota:** El proceso debe realizarse en campana con extractor

- Calentar en el baño maría
- Observar el cambio de coloración

#### **4.1.4. Prueba de Folin**

- Incorporar 1 mL de la solución problema, patrón al 1% y blanco de agua destilada
- Añadir 0,5 mL de 1,2-naftoquinon-4-sulfonato sódico al 0,2%
- Añadir 1 mL de hidróxido sódico al 10%.
- Calentar al baño maría a 70-80° C durante 5 minutos

Si aparece un color anaranjado o rojo es indicativo de la presencia de aminoácidos.

#### **4.1.5. Prueba de Sullivan**

- Añadir 0,5 mL de la solución problema, patrón al 1% y blanco de agua destilada
- Añadir 0,5 mL de cianuro sódico al 5%

**Nota:** Cuidado es extremadamente venenoso

- Añadir 0,5 mL de 1,2-naftoquinon-4-sulfonato sódico al 0.5% recién preparado
- Incorporar 2,5 mL de sulfito sódico al 10% en hidróxido sódico al 2%
- Añadir 0,5 mL de tiosulfato sódico al 2%

Si aparece una coloración roja, la reacción es positiva e indicativa de la presencia de cisteína o cistina.

#### **4.1.6. Prueba del azufre**

- Tomar 3 mL de cisteína 0,1%
- Incorporar 1 mL de NaOH al 40%
- Poner 2 ó 3 gotas de una solución de acetato de plomo
- Calentar al baño maría durante 3 minutos, hasta ebullición.

Si aparece una coloración negra en el precipitado, la reacción será positiva, indicando la presencia de azufre. En la presente situación, azufre procede de la cisteína.

#### 4.1.7. Prueba de Sakaguchi

Esta prueba es positiva para compuestos que contengan el grupo guanidinio como la arginina. El reactivo que se utiliza contiene  $\alpha$ -naftol e hipoclorito sódico, en medio alcalino. La aparición de una coloración roja es indicativo de una reacción positiva.

- Poner 5 mL de arginina al 0,02%
- Añadir 1 mL de NaOH 2M
- Añadir 1 mL de  $\alpha$ -naftol al 0,02% en etanol
- Enfriar en hielo
- Añadir 1 mL de disolución alcalina de hipoclorito sódico
- Esperar 30 segundos
- Añadir 1 mL de disolución de urea
- Observar los cambios

#### 4.1.8. Prueba de Jaffé

- Poner 1 mL de solución de creatinina al 0,01% y un blanco
- Añadir 1 ml de ácido pícrico (preparado inmediatamente antes de ser utilizado mezclando 5:1 de solución acuosa saturada de ácido pícrico e hidróxido sódico al 10%)

Si acontece la aparición de una coloración roja, se tratará de una prueba positiva para la creatinina. Puede ser leída a 520 nm, detectándose hasta 5  $\mu\text{g/mL}$ .

#### 4.1.9. Prueba de Hopkin-Cole

Implica la reacción del grupo indol del triptofano con el ácido glioxílico, en presencia de ácido sulfúrico concentrado.

- Tomar 3 mL de triptofano 0,02%
- Añadir 1 mL de reactivo de Hopkin-Cole (10 g de magnesio más agua hasta que éste quede cubierto. Mantener lentamente en agitación continua, añadir 250 mL de disolución saturada y fría de ácido oxálico. Filtrar y acidificar con ácido acético diluido y enrasar con agua hasta 1 L)
- Añadir el contenido del tubo a otro que contenga 1 mL de ácido sulfúrico concentrado

Si la reacción es positiva se coloreará la zona de contacto.

#### 4.2. Caso clínico

Un bebé varón de 5 meses es revisado en el Servicio de Pediatría apreciándose:

- Retraso en el desarrollo
- Piel blanca
- Rubio
- Fotosensibilidad

En el reconocimiento el pediatra decide realizar una bioquímica sanguínea, destacando los siguientes resultados:

pH: 7,13  
 pCO<sub>2</sub>: 24 mm Hg  
 Creatinina 4,2 mg/dl  
 Bicarbonato: 12 mmol/l

y de orina apreciando:

Glucosuria  
 Proteinuria

### **Preguntas:**

1. ¿Cuáles de los siguientes órganos esté probablemente afectado?

- Músculo
- Corazón
- Hígado
- Riñones

Riñones

2. ¿Qué aminoacidura se relaciona con más frecuencia a este cuadro clínico? y ¿con qué proceso se suele correlacionar?

Cistinosis, Síndrome de Fanconi

## **6. BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA**

- Anderson SC (1995): Metabolismo de aminoácidos y afecciones relacionadas. En Anderson SC, Cockayne (¿Iniciales nombre?) (eds): "Química Clínica", 1ª Ed. Editorial Interamericana McGraw-Hill (México D.F., México), pp. 213–221.
- Berezov TT, Korovkin BF (1992): "Chemistry of Proteins". En Berezov TT, Korovkin BF (eds): Biochemistry, 1ª Ed. Editorial Mir Publishers Moscow (Moscú, Rusia), pp. 19 – 64.
- Cabanes J (1988): Propiedades químicas y separación de los aminoácidos. En Lozano JA, Tudela J (eds): "Prácticas de Bioquímica. Experimentación y Simulación", 1ª Ed. Editorial Síntesis (Madrid, España), pp. 87–92.
- Sánchez A (1998): Alteraciones de la digestión de proteínas y de la absorción y metabolismo de los aminoácidos. En González de Buitrago JM, Arilla E,

Rodríguez-Segade M, Sánchez A (eds): Bioquímica Clínica, 1ª Ed. Editorial McGraw-Hill Interamericana (Madrid, España), pp. 181–190.

Stroev EZ, Makarova VG (1989): Proteins. En Stroev EZ, Makarova VG (eds): Laboratory Manual in Biochemistry, 1ª Ed. Editorial Mir Publishers Moscow (Moscú, Rusia), pp. 30 – 64.