

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
SERVICIO DE CIRUGIA PLASTICA  
Y RECONSTRUCTIVA  
HOSPITAL GENERAL DE MEXICO O.D.**

**EL USO DE LA GLICINA PARA MEJORAR  
LA CONDUCCION DEL NERVI PERIFERICO**

**T E S I S        D E        P O S G R A D O  
P A R A   O B T E N E R   E L   T I T U L O   D E  
E S P E C I A L I S T A   E N   C I R U G I A   P L A S T I C A  
Y   R E C O N S T R U C T I V A  
D R .   M A R C E L O   R O D R I G U E Z   O R T I Z**

**ASESOR DE TESIS: DR. BERNARDO BALTAZAR RENDON**

**JEFE DE SERVICIO: DR. CARLOS DEL VECCHYO CALCANELO**

**MEXICO D.F.**

**OCTUBRE DE 2006**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## AGRADECIMIENTOS

Le agradezco a Dios primero que nada por poner los medios para llevar a cabo lo que me gusta hacer en la vida, cuidar a mi familia para realizar sin contratiempos la meta que nos trazamos.

A mi esposa que es la mujer y madre más maravillosa del mundo la cual sin ella nada de lo que se planeo de una manera abrupta, se hubiera realizado, cuidar a mis hijos en mi ausencia, y tener la paciencia para esperar este momento. Gracias mi nena te amo.

A mis hijos Danielita y Marcelito que son la mayor inspiración en mi vida ya que por ellos y para ellos son todas estas cosas.

A mi papa y a mi mama que les agradezco que sembraron la semilla en mi, para lograr lo que con tanto esfuerzo y sufrimiento se logra el día de hoy, inculcándome valores y principios dándome su cariño y los medios para esto.

A mis hermanos Willy, Tata y Karina, ya que siempre he querido ser un buen ejemplo para ellos.

A mis suegros que les agradezco la paciencia para cuidar a mis hijos y a mi esposa.

A mis abuelos que ya no están conmigo pero que de alguna manera influyeron para que tomara esta carrera y que aun los sigo recordando.

A mis maestros los cuales tuvieron la paciencia para explicarme y enseñarme lo que necesito aprender para realizar a lo que me voy a dedicar en la vida.

Y sobre todo al Dr. Nicolás Sastre Ortiz y al Dr. Carlos Del Vecchy Calcáneo los cuales me dieron la oportunidad de llevar a cabo mi mayor sueño que es ser Cirujano Plástico.

Y para las personas y amigos que de alguna manera influyeron en mi y me hicieron pasar una mejor estancia en esta ciudad y los cuales les guardo un estimo muy especial.

Gracias

# INDICE

	<b>Pagina</b>
<b>I RESUMEN</b>	<b>1</b>
<b>II ANTECEDENTES</b>	<b>2</b>
<b>III PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>3</b>
<b>IV JUSTIFICACION</b>	<b>18</b>
<b>V HIPOTESIS</b>	<b>19</b>
<b>VI METODOLOGIA</b>	<b>20</b>
<b>VII POBLACION Y MUESTRA</b>	<b>21</b>
<b>VIII CRITERIOS DE INCLUSION Y EXCLUSION</b>	<b>25</b>
<b>IX PROCEDIMIENTOS</b>	<b>26</b>
<b>X ANALISIS ESTADISTICO</b>	<b>28</b>
<b>XI ASPECTOS ETICOS Y DE BIOSEGURIDAD</b>	<b>29</b>
<b>XII RESULTADOS</b>	<b>32</b>
<b>XIII CONCLUSIONES</b>	<b>33</b>
<b>XIV BIBLIOGRAFIA</b>	<b>34</b>

## RESUMEN

El presente trabajo pretende demostrar la utilidad de la glicina la cual se administra a dosis de 1 gramo vía oral cada 24 horas, produce una mejor velocidad de conducción en pacientes con síndrome de túnel del carpo, no mejorando su patología pero ayudando en la recuperación postoperatoria, disminuye las parestesias y permite una incorporación a sus actividades normales en un menor tiempo de recuperación, se administro a un total de 10 pacientes, entre hombres y mujeres, la dosis de la glicina vía oral de un gramo al día, se obtuvo una electromiografía de nervio mediano al inicio del tratamiento , al mes y a los tres meses mostrando una mejoría en la velocidad de conducción, se administro la dosis indicada en el preoperatorio la electromiografía evidencio una velocidad de conducción de 24m/seg, y a los tres meses de 72m/seg. A todos los pacientes se les realizo liberación del nervio mediano, ya que la patología de base es compresiva, con el resultado de una mejoría en la velocidad de conducción en todos los pacientes.

## **ANTECEDENTES**

### **ANTECEDENTES HISTORICOS**

La primera descripción del sistema nervioso periférico se encuentra en los escritos de Hipócrates (470 – 370 aC), aunque no profundizó en la diferenciación entre nervios y tendones. Galeno (130-200 AD), notó la pérdida de función sensorial o motora al seccionar tipos distintos de nervios. El primer escrito sobre sutura nerviosa data del siglo XIII, en Bologna, Italia, de parte de William de Saliceto. De los siglos XVI a XIX la información y las obras de autores como Glisson , van Leewenhoek y Fontana describen la anatomía microscópica de estas estructuras. Físicos como Galvan fueron los primeros en inferir la probable actividad eléctrica en los mismos, al experimentar con ranas y von Purkinje dilucidó la conexión entre axones y neuronas. Schwann describe las células que llevan su nombre en 1839. En 1850, el doctor Waller describe sus hallazgos sobre la lesión nerviosa. Sherrington describe las conexiones interaxonales o sinapsis. Los premios nobel Erlanger y Gasser describen el mecanismo de la conducción nerviosa. En cuanto al campo quirúrgico, corresponde a Seddon su fundación, así como el uso inicial de injertos nerviosos. Investigadores del siglo XX proyectaron grandes avances en el campo de la reparación nerviosa, como Sunderland, Millesi y Terzis. Los avances en el campo de la microcirugía han sido otro factor de interés.

## Anatomía

Los cuerpos celulares de las neuronas motoras se encuentran en el cuerno anterior de la médula espinal, mientras que los cuerpos de las neuronas sensitivas se encuentran adyacentes a la cuerda espinal en las raíces de los ganglios dorsales.

Los axones se extienden desde los cuerpos celulares y pasan a través de la longitud de los nervios periféricos.

Los nervios motores terminan en las placas motoras de los músculos, y los nervios sensitivos en receptores especializados en la piel u otras estructuras. Las neuronas son por tanto extremadamente largas, lo que permite que el daño ocurra sólo en una parte limitada de la célula.

Los componentes neuronales son el cuerpo, las dendritas y los axones. El cuerpo celular posee un núcleo redondeado y uno o varios nucleolos. El aparato de Golgi es voluminoso, al igual que las mitocondrias que se encuentran en los axones. El axón es generalmente una extensión cilíndrica de la neurona que se desprende de ella desde un montículo desde el cuerpo neuronal. El axón está limitado por el axolema, que es una capa especializada trilaminar que permite la formación de los potenciales de acción a lo largo de las células mielinizadas regulando el flujo iónico entre el medio externo y el interno. Existen elementos estructurales en el axoplasma que dan soporte al mismo, y son los microfilamentos, neurotúbulos y microtúbulos. En toda su longitud, el axón se encuentra salpicado de células de Schwann, que son células especializadas derivadas del neuroectodermo y cuya función es la producción de mielina. Entre cada célula de Schwann se encuentra un espacio desprovisto de mielina, llamado nodo de Ranvier, y es el que permite la conducción saltatoria del impulso nervioso.

## Anatomía patológica

Cuando el cuerpo neuronal es dañado, la célula muere, respuesta similar a otros tejidos del cuerpo. Las células migran hacia la zona de daño desde la periferia, y se produce una cicatriz, llevando a la pérdida total de la función nerviosa. Los nervios periféricos son dañados a menudo a un nivel más distal, donde el axón es principalmente la estructura celular lesionada. Tales lesiones no ocasionan la muerte celular. En vez de ello, las neuronas dañadas responden regenerando nuevos segmentos axonales distales.

Los nervios periféricos están formados por los axones de muchas neuronas que corren juntos. Los axones están rodeados por capas de mielina y células de Schwann que se posicionan alrededor de ellos a su vez estas estructuras están rodeadas por un endoneuro que sirve como membrana basal para las células de Schwann. Grupos de esos axones rodeados de endoneuro están confinados por un perineuro y forman fascículos.

A su vez grupos de fascículos nerviosos están rodeados por un epineuro. Un epineuro interno a menudo rodea uno o más manojos de fascículos dentro del nervio periférico, con un epineuro externo rodeando el nervio periférico en su totalidad. El epineuro externo es la envoltura que incorpora a los nervios periféricos intactos.

## Lesión nerviosa.

Cuando el axón de un nervio periférico es dañado ocurren distintos procesos hacia proximal y distal desde el sitio de la lesión. La degeneración Waleriana, que es el fenómeno por el que los axones y la mielina son fagocitados por las células de Schwann y los macrófagos, ocurre distalmente; y debido a que los elementos distales a la lesión no incluyen al núcleo u otras subunidades esenciales, la célula por lo general sobrevive. La lesión causa la liberación de iones de calcio, los cuales median la activación de varias proteasas y contribuyen a la formación de radicales libres, que participan en la destrucción tisular.

Una vez que la degeneración se establece, las células de Schwann adyacentes proliferan y se vuelven fagocíticas. Estas células fagocitan los elementos axonales y la mielina, contribuyendo a la limpieza de los elementos distales axonales. Los macrófagos también contribuyen a la fagocitosis, siendo reclutados hacia el segmento distal del axón.

El efecto combinado de este desbridamiento celular y químico resulta en la formación de un hueco en la envoltura del endoneuro, que entonces se colapsa. Al final quedan tubos de endoneuro vacíos junto con sus células de Schwann.

#### Lesión nerviosa y citocinas

Además de contribuir en la fagocitosis, las células de Schwann secretan citocinas, como factor de crecimiento neural (NGF), que promueve el crecimiento axonal. Los macrófagos secretan factor de crecimiento neural, factor de crecimiento similar a la insulina (IGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y apolipoproteína E (apo E). El factor de crecimiento similar a la insulina, así como el factor de crecimiento neural, es un conocido estimulante del crecimiento axonal. La apoproteína E contribuye al elongamiento axonal y a la remielinización.

#### Regeneración nerviosa

También ocurren cambios en el cuerpo celular. El núcleo celular crece y migra hacia un punto más central del citoplasma, y el cuerpo celular entero se vuelve redondo. El número de ribosomas aumenta, y el retículo endoplásmico rugoso se secciona y migra hacia la periferia celular. El retículo endoplásmico marginado y fragmentado se conoce como sustancia de Nissl o cuerpo de Nissl. A esos cambios histológicos se les conoce con el nombre de cromatolisis. En el sitio de la lesión, brotan axones desde el nervio proximal seccionado dentro de las primeras 24 horas después de ocurrido el daño. Los brotes derivan desde el extremo seccionado del axón y desde nodos de Ranvier proximales a los extremos axonales. Inicialmente son desmielinizados, y axones individuales pueden producir más de un brote. Una porción alargada de axoplasma, conocida como cono de crecimiento, se desarrolla desde la punta de los brotes.

El cono de crecimiento incluye varias estructuras intracelulares, como retículo endoplásmico liso, microtúbulos, microfilamentos, mitocondrias y lisosomas. También incluyen células de Schwann en su periferia. Existen por lo menos tres propiedades del nervio y su entorno que favorecen la adecuada regeneración. El neurotrofismo es la capacidad de los receptores distales a la lesión para favorecer la maduración de las fibras nerviosas. La recuperación funcional depende de que las fibras en regeneración se reconecten a la terminación distal correcta, a saber: fibra motora a placa muscular, fibra sensitiva a receptor sensitivo. Estudios experimentales han demostrado especificidad de las fibras para dirigirse a una u otra terminación. Esta propiedad se ha denominado neurotropismo. La preferencia de una fibra nerviosa para crecer hacia un nervio en vez de otro tejido depende de la influencia del nervio distal. Investigaciones actuales tratan de descubrir el mediador de esta influencia. La conducción por contacto es el tercer proceso que influye en la regeneración de las fibras. Sustancias como la laminina favorece la regeneración de las fibras, mientras que el tapón de sangre inhibe esta regeneración. Filopodos ricos en actina se extienden y contraen desde la parte más distal del cono de crecimiento en movimientos ameboides. Esos filopodos salen desde el nervio dañado y se mueven en distintas direcciones hasta que entran en contacto con un sustrato favorable. Este sustrato favorable incluye aquellos con células de Schwann y factores accesorios como fibronectina y laminina, sustancias encontradas dentro de la envoltura endoneural. Una vez que la envoltura que contiene tales factores es encontrada, el axón crece hacia su interior. Esto usualmente ocurre el día siguiente de la lesión.

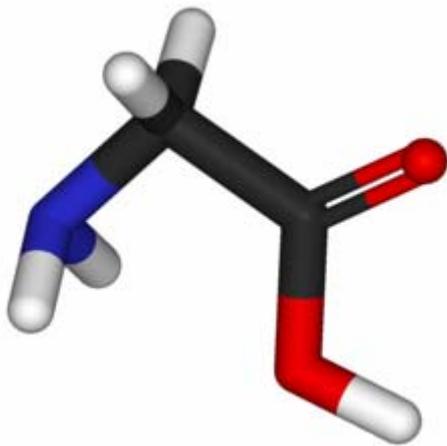
A medida que el axón crece, se requieren nuevos componentes del citoesqueleto. Como se mencionó, ellos son sintetizados en el cuerpo celular y son transportados al sitio del daño axonal. Algunos componentes pueden ser transportados relativamente rápido (en orden de 400 mm al día), pero la actina, tubulina y neurofilamentos requeridos para la regeneración axonal son transportados por mecanismos más lentos (menos de 30 mm al día).

El índice de transporte lento es el componente limitante de la regeneración nerviosa. Si no hay crecimiento axonal dentro de la envoltura endoneural, esta encoge a sólo el 1% de su tamaño original al año de la lesión. El aporte sanguíneo disminuye al mismo tiempo. Aunque una envoltura puede reexpandirse si un axón creciera en su interior posteriormente, el aporte sanguíneo nunca retorna completamente al estado previo, y el axón regenerado será más pequeño que el tamaño original.

La pérdida de la continuidad axonal lleva a la pérdida de la transmisión sináptica de las señales nerviosas. Si el daño está cerca del final del nervio, la actividad sináptica disminuye mucho más rápido. Las placas motoras en la porción más distal de los nervios motores se atrofian después de la lesión, aunque se pueden recuperar si se reinervan hasta en los 12 a 24 meses de la lesión. Los organelos sensoriales terminales pueden recuperar su función si se reinervan años después de la lesión, pero la calidad de la sensación recuperada puede disminuir si ha pasado mucho tiempo entre la lesión y la reparación. El número final de axones que llegan al órgano Terminal es menor que el número prelesional. A menudo, compensación a nivel central y reeducación deben ocurrir para maximizar el resultado funcional final.

### El uso de la Glicina para la regeneración nerviosa

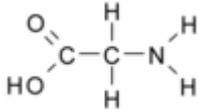
Para muchos investigadores es difícil aceptar que se puedan obtener efectos beneficiosos en varios estados patológicos con el aminoácido más simple, la glicina. Cada vez hay más evidencias apoyando esta idea. Ahora se sabe que la glicina de la dieta protege al organismo frente a shock tanto por pérdida sanguínea como por endotoxinas, reduce la concentración de alcohol en el estómago y aumenta la recuperación de la hepatitis producida por alcohol, disminuye el daño hepático inducido por fármacos hepatotóxicos y bloquea la apoptosis y en el riñón disminuye la nefrotoxicidad originada por el fármaco inmunosupresor ciclosporina A y previene la hipoxia y la formación de radicales libres. Además puede ser útil en otras enfermedades con procesos inflamatorios ya que disminuye la formación de citoquinas.



### ESTRUCTURA QUIMICA DE LA GLICINA

Es el aminoácido más pequeño. Su fórmula química es  $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$  y su masa es 75,07 el [RNA](#) mensajero está codificada como GGU, GGC, GGA o GGG

Revisamos algunos de los efectos benéficos del aminoácido glicina, así como el mecanismo supuesto de estos efectos, que podrían llevar a proponer su inclusión en la terapéutica de alguna enfermedad que podría afectar a las características físicas de este aminoácido por impartir carga, hidrofobicidad u otras limitaciones estructurales. Estas propiedades permiten a la glicina desempeñar un papel importante en la estructura de ciertas proteínas y actuar en varias funciones celulares como un modificador biológico. Los residuos de glicina pueden acomodarse en el interior hidrofóbico de las proteínas; esto le confiere flexibilidad en el pliegue de las proteínas con tendencia a formar hélices y

<b>Glicina</b>	
<a href="#"><u>IUPAC</u></a>	ácido aminoetanoico
<a href="#"><u>Fórmula química</u></a>	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>2</sub>
<a href="#"><u>Masa molecular</u></a>	75,07 g mol <sup>-1</sup>
<a href="#"><u>Punto de fusión</u></a>	535 K (se descompone)
<a href="#"><u>Densidad</u></a>	1,607 g cm <sup>-3</sup>
$\Delta H_c^0$	-981,1 kJ mol <sup>-1</sup>
$\Delta_f H^0$	-528,6 kJ mol <sup>-1</sup>
<a href="#"><u>Número CAS</u></a>	56-40-6
<a href="#"><u>SMILES</u></a>	xxx
	

permite versatilidad en la estructura de los receptores. Péptidos con secuencias repetidas de glicina están ampliamente distribuidos en la naturaleza y están presentes en las queratinas y proteínas filamentosas como las laminillas nucleares. El colágeno es rico en moléculas de glicina y ahora se sabe que la sustitución de un solo residuo de glicina por otro residuo dentro de la molécula de colágeno es la base de algunas enfermedades hereditarias como el síndrome Ehlers-Danlos tipo IV4, la osteogénesis imperfecta y la epidermólisis bulbosa pruriginosa. La actividad biológica de algunas moléculas puede ser alterada por la adición o eliminación de un residuo de glicina. La conjugación con glicina es un importante mecanismo de detoxificación. Por ejemplo el retraso en el desarrollo de glicina N-acetiltransferasa en niños puede afectar a la detoxificación de

varios fármacos y xenobióticos. La conjugación con glicina es también un importante proceso fisiológico, y la unión a ácidos biliares permite su paso a través de las membranas celulares<sup>8</sup>. La alfa-amidación peptídica es necesaria para liberar algunas hormonas de sus precursores ricos en residuos de glicina. Este proceso postraduccion terminal es esencial para la activación biológica de muchas hormonas peptídicas, tales como gastrina y neuropéptidos<sup>9,10</sup>. La glicina es un osmoprotector contra estrés originado por altas temperaturas, desecación y medios ambientales concentrados en urea. Por ejemplo, la acumulación de glicina betaína parece ser un mecanismo por el que *Escherichia coli* puede adaptarse a fuerzas osmóticas externas y crecer en orina hipertónica.

### **La glicina como molécula de comunicación extracelular**

Los canales iónicos son poros proteicos dentro de la membrana celular que transfieren iones a lo largo de un gradiente electroquímico. Están ampliamente distribuidos y tienen un papel clave en el mantenimiento de la integridad celular<sup>12</sup>. Sus funciones fisiológicas incluyen: regulación del volumen celular, estabilización del potencial de membrana, transducción de señales, transporte transepitelial y acidificación de orgánulos intracelulares<sup>13</sup>. Los canales iónicos están regulados por estímulos tales como el ión calcio, AMPc, pH, ligandos extracelulares y voltaje transmembrana. Los canales iónicos de apertura rápida regulados por ligando constituyen una superfamilia génica que incluye nicotín acetil colina, ácido gaba-aminobutírico y receptores de glicina<sup>14</sup>. El receptor de glicina es un complejo pentamérico que forma un canal transmembrana selectivo de cloro que se expresa predominantemente en la médula espinal y cerebro<sup>15</sup>. En dichas regiones la glicina actúa como un neurotransmisor inhibidor. En este contexto, mutaciones génicas en las subunidades alfa y beta del receptor de glicina originan desórdenes motores hereditarios<sup>16</sup> y la flacidez del shock espinal está asociado con una concentración local alta de glicina<sup>17</sup>.

## **Receptores de la glicina**

La glicina ejerce su acción inhibitoria por unión a su receptor que está ampliamente localizado en las membranas neuronales postsinápticas<sup>18</sup>. La señal inhibitoria postsináptica bloquea la acción despolarizadora de la neurotransmisión por incremento de la permeabilidad al Cl<sup>-</sup> a través de la membrana neuronal postsináptica. La identidad de la glicina como un neurotransmisor inhibitorio fue originalmente propuesta por Aprison y cols.<sup>19</sup> y Davidoff y cols.<sup>20</sup>, que describieron en detalle la distribución de la glicina a través del sistema nervioso central.

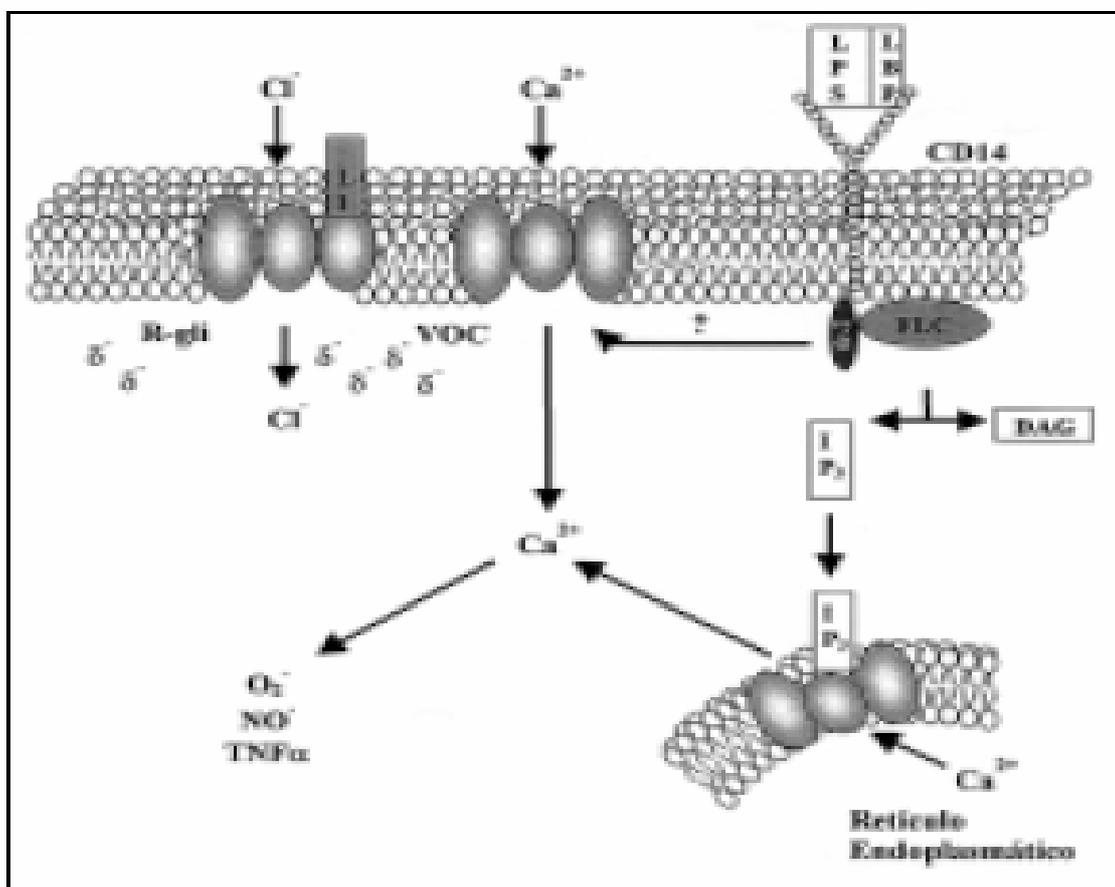
Estudios autorradiográficos con glicina marcada demostraron que la glicina se localiza en las regiones sinápticas en la médula espinal<sup>21</sup>. Estudios funcionales posteriores demostraron que la glicina hiperpolariza las neuronas motoras postsinápticas por incremento de la conductancia al cloro; así, el receptor de la glicina es a menudo referido como un canal de cloro unido o sensible a glicina. Esta inhibición puede ser bloqueada selectivamente por la estriquina, lo que ha permitido la posterior caracterización de la acción de la glicina en el SNC- Con el uso de estriquina de alta afinidad, se ha purificado el receptor de la glicina, la composición de las subunidades y los lugares de unión del receptor y se ha identificado la secuencia de aminoácidos de muchas de las subunidades. Igualmente se ha demostrado que una amplia variedad de células involucradas en la inflamación (células de Kupffer, macrófagos alveolares y neutrófilos) también contienen canales de cloro sensibles a glicina.

La glicina provoca por hiperpolarización de la membrana plasmática de leucocitos una menor sensibilidad a los estímulos inflamatorios tales como endotoxinas y posiblemente a una amplia variedad de factores de crecimiento.

El canal de la glicina está compuesto de tres subunidades distintas proteicas: una de 48 kDa llamada subunidad alfa; una subunidad beta de 58 kDa, y una subunidad citoplasmática de anclaje (gefirina) de 93 kDa. Se han identificado y clonado tres isoformas diferentes de la subunidad alfa en ratas y homólogos de las subunidades B1, B2 y alfa en médula espinal de humanos y ratones. Recientemente, una cuarta subunidad b ha sido identificada por Matzenbach y cols.

El receptor de la glicina está compuesto por 5 subunidades, for- La glicina: un nutriente antioxidante protector celular formadas de subunidades o la combinación de subunidades a y B que constituyen un complejo pentamérico el cual penetra la membrana celular. La región citoplasmática de la subunidad b se encuentra formando un complejo con la proteína de anclaje gefirina. Las propiedades funcionales del receptor de la glicina están relacionadas con la composición de las subunidades del pentámero completo. La glicina al activar los canales de cloro sensibles a este aminoácido de la membrana plasmática de las células de Kupffer y otras células de la serie blanca origina un influjo de iones cloro conduciendo a la hiperpolarización de la membrana. Con la producción de estímulos externos tales como endotoxinas, se produce un influjo dependiente de voltaje de calcio libre extracelular a través de canales dependientes de voltaje.

Este incremento en el calcio intracelular es impedido debido al estado de hiperpolarización de la membrana plasmática creado por la interacción de la glicina con su receptor. De esta manera se bloquea la producción de señales intracelulares y la producción de citoquinas que son dependientes del incremento del calcio intracelular, lo que previene la cascada de producción de citoquinas inflamatorias que sigue a la activación de las células de Kupffer y otros tipos de células sanguíneas que contengan este tipo de receptor<sup>3</sup>(figura 1).



*Fig. 1.—Supuesto mecanismo de acción celular de la glicina. (DAG: diacilglicerol; CD14: Receptor; FLC: fosfolipasa;  $IP_3$ : inositol 1,4,5-trifosfato; LBP: proteína de unión al lipopolisacárido; LPS: lipopolisacárido; R-gli: receptor de glicina; tlr-2: receptor transmembrana unido al CD14;  $TNF\alpha$ : factor de necrosis tumoral alfa; VOC: canal de calcio dependiente de voltaje).*

## **La glicina como antioxidante**

Datos obtenidos por otros investigadores apuntan a la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO) en condiciones de hipoxia, como el motor desencadenante de toda una serie de alteraciones originadas tras los procesos de hemorragia y resucitación. El estrés oxidativo puede afectar a la integridad celular sólo cuando los mecanismos antioxidantes no son capaces de superar la generación de radicales libres. Dicho estrés induce un incremento en la permeabilidad y un descenso en el potencial de membrana.

El shock hemorrágico y la posterior reinfusión producen cambios críticos en varios órganos con la generación de radicales libres de oxígeno. Determinando la concentración de productos de reacción del ácido tiobarbitúrico (TBARS), como marcador de estrés oxidativo, se ha observado un incremento significativo en pulmón, riñón e hígado, pero no en cerebro o corazón, probablemente porque los primeros son fácilmente dañados por los procesos de isquemia/reinfusión, siendo el cerebro y el corazón más resistentes a este proceso.

En un trabajo realizado por nuestro equipo con 3 grupos de ratas: controles que recibieron una dieta estándar (C), ratas alimentadas con una dieta estándar y sometidas a shock hemorrágico agudo y posterior retransfusión (S) y ratas alimentadas con una dieta suplementada con glicina al 5% durante 4 días y sometidas a shock hemorrágico y posterior retransfusión (G) observamos una reducción de los parámetros hepáticos indicadores de estrés oxidativo, TBARS y relación glutatión oxidado/glutatión reducido (GSSG/GSH), en el grupo alimentado con glicina y sometido a shock hemorrágico (tabla I). Similares resultados han obtenido Deters y cols. En 1997 en un proceso de hipoxia/reoxigenación hepática administrando glicina al líquido de perfusión, o inyectando glicina previo al shock hemorrágico<sup>1</sup>. Por otro lado la glicina previene el descenso de la actividad de las enzimas hepáticas antioxidantes (SOD, GPx y CAT) tras el shock hemorrágico (tabla I) y revierte el incremento de los ARNm de las mismas (fig. 2).

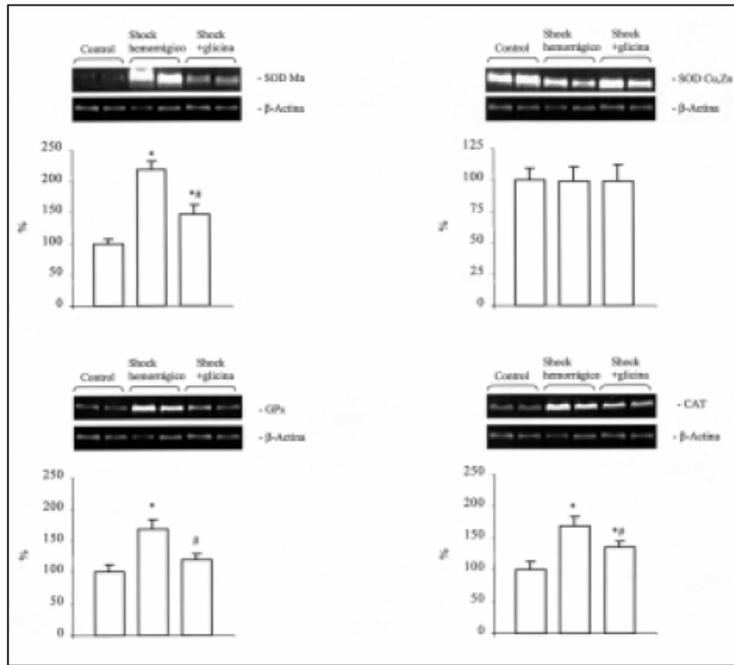


Fig. 2.—Expresión génica de los ARNm de las enzimas antioxidantes en diferentes grupos experimentales. Se utilizó como control interno  $\beta$ -actina. Se muestran reacciones representativas mediante RT-PCR de 5 ratas por grupo. Resultados expresados en porcentaje respecto al grupo control (valores medios  $\pm$  EEM). \*  $p < 0,05$  respecto a grupo control. #  $p < 0,05$  respecto a grupo shock hemorrágico.

El efecto de la glicina sobre las actividades de las enzimas antioxidantes, podría derivar del bloqueo ejercido por este aminoácido sobre la activación de las células de Kupffer productoras de radicales libres tanto de oxígeno como de nitrógeno y de citoquinas, cuyas concentraciones se incrementarían en condiciones de daño por isquemia/reperfusión provocado por shock hemorrágico agudo. Dicho bloqueo impediría la actuación de estos factores sobre las enzimas antioxidantes, con la restauración de valores próximos a controles, tanto de la actividad como de los ARNm, de dichas enzimas. Distintas moléculas pueden alterar tanto la actividad como los ARNm de las enzimas antioxidantes, éstas no tienen por que responder en el mismo sentido a la influencia de distintas moléculas y condiciones fisiopatológicas<sup>44</sup>. Moléculas como la metionina, un aminoácido esencial cuya deficiencia parece estar ligada a patologías cardiovasculares, aumenta la actividad de las enzimas antioxidantes SOD, catalasa y GPx, tras su administración oral sin modificar la cantidad de ARNm de la SOD y catalasa. Asimismo, el propranolol administrado de forma intravenosa aumenta las actividades de la GPx y catalasa sin modificaciones en la actividad de la SOD, no produce modificación en los ARNm de ninguna de las enzimas antioxidantes<sup>46</sup>. Una molécula como el probucol, utilizado para

proteger la cardiotoxicidad inducida por adriamicina, bloquea el descenso del ARNm, de la concentración proteica y la actividad de la SOD sin mostrar cambios en los ARNm de GPx y catalasa.

### **La glicina como antiinflamatorio**

Las células de Kupffer del hígado constituyen el 80% de los macrófagos residentes en el organismo. La glicina bloquea el proceso inflamatorio sistémico que se origina en una amplia variedad de estados patológicos tales como trauma, shock hemorrágico, sepsis, quemados y procesos de isquemia/reperfusión, debido a la activación de macrófagos que liberan potentes mediadores inflamatorios tales como citoquinas tóxicas y eicosanoides, los cuales desempeñan un importante papel en la respuesta inflamatoria progresiva. La glicina: un nutriente antioxidante protector celular Se ha demostrado que los macrófagos son activados por endotoxinas, por la hipotensión sistémica y por los sucesivos procesos de isquemia/reperfusión. Además, la lesión de la mucosa intestinal causada por hipoperfusión/reperfusión conduce a la traslocación bacteriana y aumento de endotoxinas que son potentes activadores de macrófagos. Además de promover toxicidad directa, el estrés oxidativo provocado por el shock hemorrágico o endotóxico también puede iniciar o amplificar la inflamación a través de la sobreexpresión de genes involucrados en la respuesta inflamatoria. El daño multiorgánico producido por los procesos de isquemia y reperfusión forma parte de una compleja respuesta inflamatoria. Entre los posibles mecanismos por los cuales el intestino y el hígado producen citoquinas como consecuencia de las alteraciones producidas por shock hemorrágico, numerosas pruebas apuntan a que una de las mayores contribuciones la constituye el daño por isquemia/reperfusión<sup>52</sup>. Las endotoxinas liberadas en el intestino tras la isquemia producida por el shock hemorrágico estimulan la producción del factor de necrosis tumoral (TNF-alfa) una citoquina proinflamatoria que es liberada por monocitos y macrófagos activados y que tiene un papel crítico en los procesos inflamatorios sistémicos. En un trabajo llevado a cabo se encontró una elevada concentración plasmática de TNF-alfa transcurrida una hora desde la resucitación en el grupo de animales sometido a shock hemorrágico y alimentado con dieta

estándar, efecto que fue revertido en cierta medida por la alimentación de una dieta suplementada con glicina (tabla I). La concentración de TNF-alfa fue indetectable en ratas control que no fueron sometidas a shock hemorrágico. Pudimos observar que a las 20 horas de iniciado el shock hemorrágico, la concentración plasmática de TNF-alfa era indetectable. Estos resultados coinciden con los encontrados en experimentos llevados a cabo por distintos autores tanto en shock hemorrágico como endotóxico y bien administrando la glicina por vía venosa o con la dieta. El TNF-provoca aumento de la relación GSSG/GSH en células endoteliales y simultáneamente incrementa la concentración citosólica de Ca. Igualmente se ha demostrado que la exposición de hepatocitos a TNF-disminuye la concentración de GSH y de ATP. Otra importante acción del TNF- y otras citoquinas durante los procesos inflamatorios es la inducción de la isoenzima hepática óxido nítrico sintetasa (NOS).

### **Glicina y óxido nítrico**

Se ha relacionado al óxido nítrico (NO), un mediador biológico de corta vida media plasmática, producido por diversos tipos celulares tales como células inflamatorias y hepáticas, tanto con el mecanismo de señales moleculares como con distintas patologías derivadas de sus efectos tóxicos. Se han descrito tanto efectos beneficiosos como perjudiciales al inhibir su formación. Existe un consenso generalizado según el cual la excesiva producción de NO es citotóxica y contribuye al daño celular en distintos estados patológicos, incluyendo daño pulmonar agudo, shock endotóxico y daño producido por los fenómenos de isquemia/ reperusión. En condiciones fisiológicas el óxido nítrico liberado de las células del endotelio vascular a través de la óxido nítrico sintetasa constitutiva (ecNOS), regula el tono vascular, la presión sanguínea y la perfusión tisular. En diferentes condiciones patológicas, sin embargo, la forma inducible de la óxido nítrico sintetasa (iNOS) puede producir grandes cantidades de NO que están implicadas en la inducción de daño celular y disfunción orgánica.

Resultados obtenidos por diferentes investigadores incluido nuestro equipo evidencian una relación entre el incremento del estrés oxidativo en distintas patologías, su efecto sobre la actividad de la iNOS y el aumento en la síntesis de óxido nítrico. El mecanismo responsable del incremento en la producción de NO tras shock hemorrágico puede tener su origen en el descenso en la perfusión del intestino delgado, hígado y bazo, ya que la hipoxia inducida por condiciones de flujo disminuido aumenta la liberación de citoquinas proinflamatorias desde estos órganos que podrían sobrerregular la expresión de la iNOS, conduciendo a un prolongado incremento tisular y plasmático de Óxido nítrico. Es posible que este aumento en la formación de óxido nítrico esté involucrado en la descompensación vascular, el fallo orgánico y la fisiopatología de la respuesta inflamatoria sistémica.

Todo esto nos lleva a establecer una relación entre el aumento de las especies reactivas de oxígeno, el incremento en la producción del TNF- $\alpha$  y la producción de óxido nítrico derivado del aumento en la expresión de la iNOS, si bien no podemos descartar otras relaciones causales que produzcan incrementos en la producción de TNF- $\alpha$  y de óxido nítrico en condiciones de estrés oxidativo.

Se podría sugerir que el aminoácido glicina impide el efecto tóxico derivado del incremento de la concentración de óxido nítrico al bloquear tanto la producción de radicales libres como la producción de citoquinas inflamatorias, factores calcio dependientes que modulan la producción de óxido nítrico y la glicina pueden modular los canales de calcio intracelular (fig. 3).

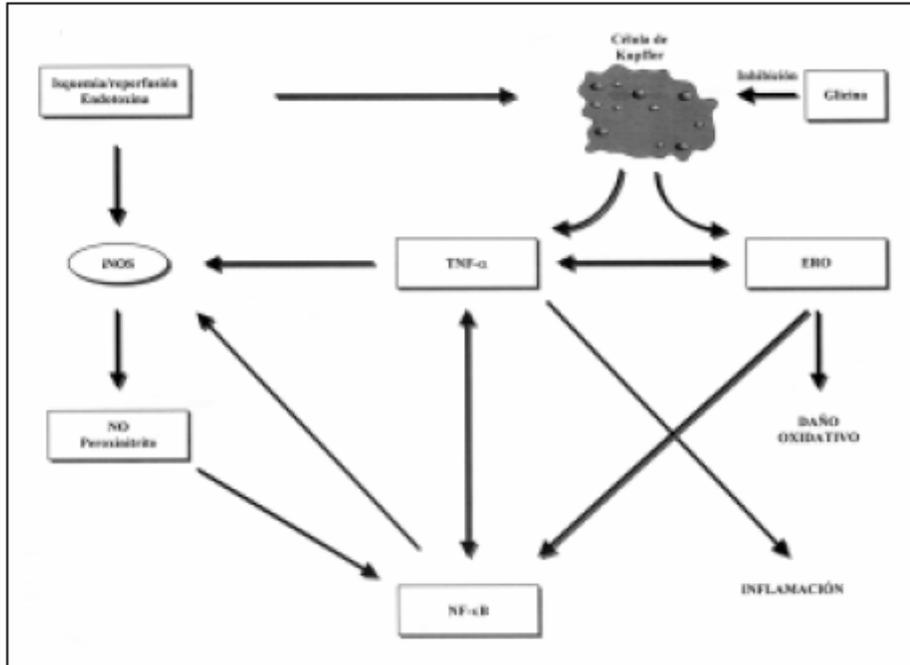


Fig. 3.—Supuesto modo de bloqueo por la glicina. La glicina inhibe la activación de las células de Kupffer bloqueando la producción por éstas de especies reactivas de oxígeno así como de citoquinas, factores que estimularían la producción de NO por la iNOS y la activación de NF-κB.

### Glicina y factores de transcripción

En las células eucariotas la expresión de los genes está controlada por los factores de transcripción. Los factores de transcripción son proteínas que tienen la capacidad de establecer complejos estables con el ADN. Estos factores reconocen secuencias nucleotídicas específicas, localizadas en la región promotora de los genes, con una longitud de menos de 20 pares de bases. La actividad de las proteínas que pueden unirse al ADN, como c-Jun, c-Fos o la familia Rel/NF-κB regulan la actividad transcripcional de los genes de las citoquinas. La gran mayoría de los genes que codifican para citoquinas que participan en la respuesta inflamatoria tienen sitios κB en sus regiones promotoras. El factor nuclear-κB (NF-κB) es un factor transcripcional identificado inicialmente como una proteína de origen linfoide, que se une al oligonucleótido GGGACTTCC presente en muchos genes. Su localización, en estado inactivo, es citoplasmática, se halla asociado a una proteína inhibidora de la familia IB.

Su estructura es dimérica y sus dímeros poseen regiones Rel, dichas regiones son las responsables de su unión con el ADN, a otras subunidades e incluso con la proteína IB. Modificaciones en el NF-B/Rel/IB dan lugar a la activación de NF-B. Estas modificaciones<sup>75</sup> suelen consistir en fosforilaciones de la propia proteína NF-B o de la proteína IB. Las modificaciones de IB pueden ser inducidas por una gran variedad de agentes diferentes. El papel de NF-B está relacionado con la respuesta Inflamatoria y desempeña un papel importante en la activación de las células hepáticas estrelladas. Se ha Sugerido un papel antiapoptótico de NF-B. Las vías de activación de NF-B son extremadamente sensibles a los cambios en el estado oxidativo celular. La tioredoxina y diversos antioxidantes provocan la inhibición tanto de la unión de NF-B al ADN, como de la transactivación dependiente de NF-B. Se podría explicar<sup>81</sup> por la capacidad de la tioredoxina para interactuar con cinasas sensibles al estrés oxidativo, impidiendo su acción sobre la degradación/liberación de IκB e inhibiendo así la activación de NF-B. Sin embargo, algunos autores han descrito la activación a través de la reducción de residuos de cisteína conservados en el dominio de unión de las proteínas Rel promovida por tioredoxina y los antioxidantes. Estas modificaciones redox podrían representar un mecanismo secundario de control ejercido por los antioxidantes dentro del núcleo. También se ha demostrado una clara activación de NF-B en células Hep G2 como consecuencia del incremento del estrés oxidativo hepático provocado por el etanol y su metabolito acetaldehído. Las especies reactivas de oxígeno generadas en condiciones de shock hemorrágico activan factores reguladores nucleares como NF-B que afecta a la transcripción de genes de citoquinas. La glicina administrada bien por vía oral o en inyección inhibe la activación del factor transcripcional NF-B que podría deberse no a un efecto directo sobre NF-B sino más bien al bloqueo o disminución de diversos factores que podrían inducir su estimulación, y que se pueden relacionar con alteraciones redox celulares como son las ERO, el NO y el TNF-alfa.

## **Mecanismo de acción de la glicina**

Ya que la glicina es uno de los aminoácidos que desciende en suero en el shock, el papel inmunorregulador de la glicina puede ser muy importante. La dieta con glicina permite incrementar la concentración sanguínea de glicina a más de 1 mM desde concentraciones de 0,1-0,2 mM y proteger contra el shock causado por disminución sanguínea o endotoxinas. La cuestión principal es evaluar el mecanismo molecular por el que la glicina tiene tantos efectos beneficiosos. Probablemente la glicina tenga efectos inhibidores en mecanismos de comunicación celular en células que contengan un canal de cloro sensible a glicina. La glicina: un nutriente antioxidante protector celular como se comentó antes los canales de calcio sensibles a voltaje cumplen una función primordial en la elevación del calcio, necesario para los mecanismos de acción intracelular en muchos tipos celulares inmunes como las células de Kupffer. Además, es conocido que incrementos en el Ca<sup>2+</sup> intracelular disparan la apertura de canales de cloro Na y en la membrana plasmática, conduciendo a la hiperpolarización, haciendo más difícil la apertura de los canales de calcio dependientes de voltaje. La hipótesis asumida por la mayoría de los investigadores es que con la apertura de los canales de cloro en la membrana plasmática de las células de Kupffer y otras células sanguíneas blancas, se dificulta o impide el influjo de calcio disparado por una variedad de agonistas, medicamentos y factores de crecimiento. Además actúan sobre los receptores de NMDA actúan también sobre la bomba de protones. Así, muchos otros estados patológicos que involucran activación de células inmunes, en particular macrófagos, neutrófilos y linfocitos, deberían estar afectados por elevados niveles de glicina, de acuerdo con esta hipótesis. Además, la elevación de los niveles sanguíneos de glicina, con una simple administración dietaria, ha demostrado mejorar entre otros la situación en daño hepático por alcoholismo, algunas formas de cáncer, y la nefrotoxicidad debida a ciertos medicamentos.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Se ha observado que la glicina mejora la velocidad de conducción en estudios previos realizados en animales de experimentación. Nuestro objetivo es realizarlo en humanos y en pacientes con patología compresiva de nervio mediano a nivel del túnel del carpo.

## **JUSTIFICACION**

Dado que la patología compresiva de nervio mediano a nivel del ligamento retinacular anterior en túnel del carpo es un padecimiento que se presenta en un 10% de la población en algún momento de su vida y cerca del 40% será de manera bilateral, no todos los pacientes pueden ser sometidos al tratamiento quirúrgico que consiste en descompresión a nivel del túnel del carpo, se propone el uso como tratamiento coadyuvante a la Cirugía o para el control de pacientes no aptos a procedimientos invasivos.

## **HIPOTESIS**

Si la administración de glicina aumenta la velocidad de conducción nerviosa en pacientes con patología compresiva de nervio mediano a nivel del túnel del carpo por lo tanto mejorara la sensibilidad táctil, discriminación a 2 puntos, las disestesias, y la fuerza muscular de la mano afectada.

## **OBJETIVOS**

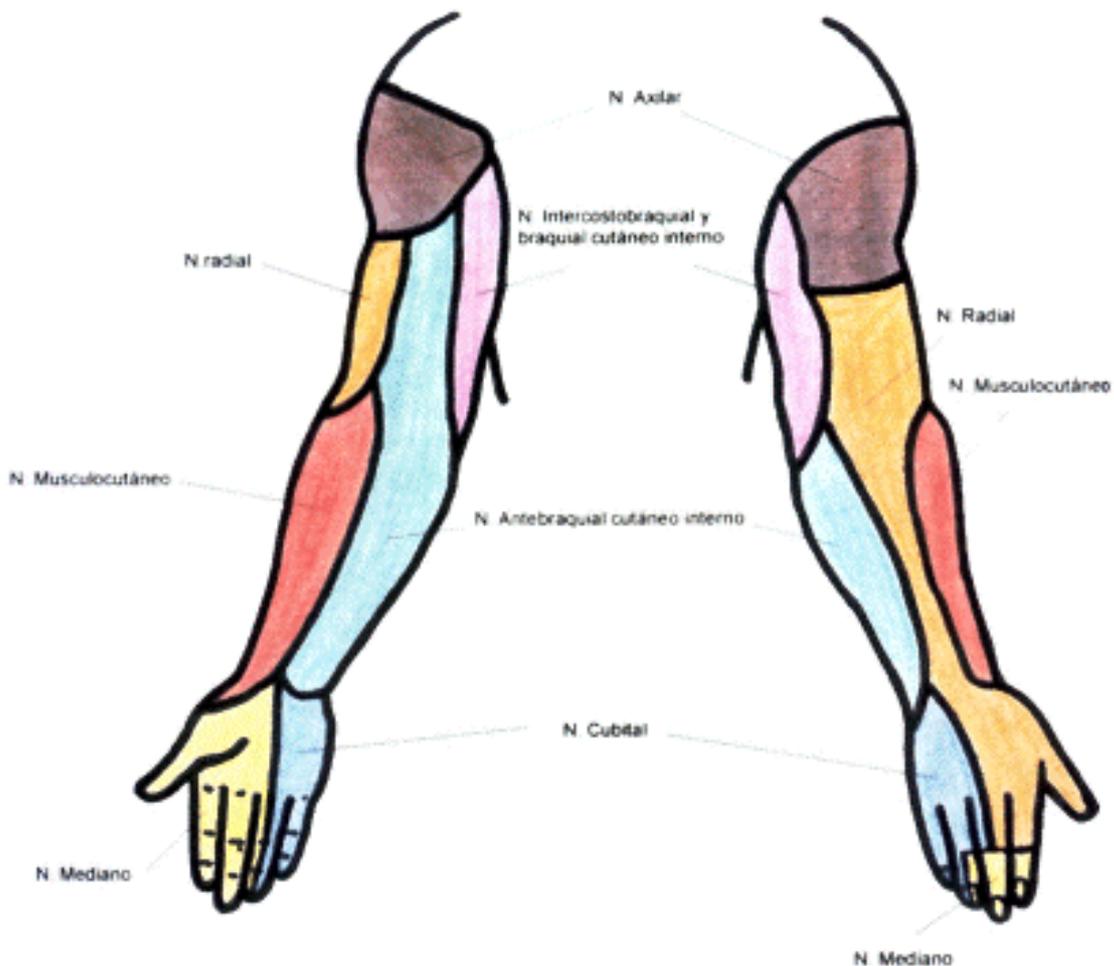
Integrar a los pacientes a su vida cotidiana a la brevedad y establecer como protocolo el uso de glicina en todos los pacientes los cuales presenten patología compresiva de nervio mediano a nivel del túnel del carpo.

## **METODOLOGIA**

El presente es un estudio de investigación clínica longitudinal, observacional y prospectivo en el cual se le proporciona a los pacientes la glicina la cual ingerirán vía oral 1 gramo vía oral en una sola dosis diaria, durante tres meses. Se les tomara electromiografía de control, al mes y a los tres meses de iniciado el tratamiento.

## MATERIALES Y METODOS

Se tomaron a diez pacientes 5 hombres y 5 mujeres con diagnóstico de compresión de nervio mediano a nivel del túnel del carpo diagnosticados con velocidad de conducción por electromiografía, clínicamente con disestesias, signo positivo de Phalen y parestesias en región de territorio del nervio mediano disminución de la fuerza en la mano afectada, dolor, se les administra un gramo de glicina vía oral al día por 90 días, antes de que se les realizara la cirugía, realizándoseles electromiografía, cada 30 días, mapeo de sensibilidad, prueba de weber discriminación a dos puntos y valoración bajo cartas de dolor, 5 hombres y 5 mujeres.



## **CRITERIOS DE INCLUSION Y EXCLUSION**

Se incluyeron a pacientes con compresión de nervio mediano a nivel del túnel del carpo, no tratados quirúrgicamente de esta patología y sin patología agregada.

Se excluyeron a pacientes sin patología de nervio mediano con enfermedades sistémicas y ya operadas de liberación de túnel del carpo

## **ANALISIS ESTADISTICO**

Se realiza análisis estadístico pareado, e inferencial, comparando los resultados, al inicio al mes y a los tres meses, con electromiografía, para determinar el nivel de significancia, con un grado de confianza de 99.5%  $p=0.05$ .

## **ASPECTOS ETICOS Y DE BIOSEGURIDAD**

El tipo de estudio contempla un riesgo mínimo hacia los pacientes el cual fue cubierto con una carta de consentimiento informado debidamente firmada por los pacientes

## RESULTADOS

Se les realizo electromiografia de control a los diez pacientes los cuales tienen como enfermedad de base síndrome de túnel del carpo diagnosticado con electromiografia y con historia clínica, discriminación a dos puntos de 8mm a 12mm la cual se justifica por el tipo de pacientes tratados en este hospital los cuales la mayoría son obreros con un tipo de piel mas gruesa. La sintomatología en cuestión de parestesia mejoro. Al total de los pacientes se les realizo liberación de túnel del carpo mediante incisión abierta, se les siguió con la administración postoperatoria, mejorando notablemente las parestesias a corto plazo y la integración a sus actividades. La discriminación a dos puntos mejoro de 10 a 8 y 6 mm a los 90 días ya que a los 30 días no hay cambio. Los mapas de sensibilidad que evidencian la mejoría en las disestesias. Y en las cartas de dolor las cuales al inicio del estudio van de intenso a moderado mejorando de moderado a nulo en todos los pacientes. La electromiografia de control evidencio una velocidad de conducción de 24 m/seg., a 40 m/seg. y la electromiografia a los 30 días no evidencio mejoría, pero a los 60 días mejoro la velocidad de 45 a 55m/seg. y a los 90 días mejoro desde 50 a 70m/seg. en todos los pacientes.

## RESULTADOS

Cambio de la velocidad de conducción tomando en cuenta la inicial y posteriormente al mes, dos meses y tres meses ejemplificándose en la siguiente grafica.

INICIO		30 DIAS	60 DIAS	90 DIAS
<b>PACIENTES</b>				
1	24M/SEG	NO CAMBIOS	45M/SEG	50M/SEG
2	24M/SEG		45M/SEG	50M/SEG
3	26M/SEG		47M/SEG	52M/SEG
4	28M/SEG		48M/SEG	55M/SEG
5	40M/SEG		55M/SEG	70M/SEG
6	35M/SEG		50M/SEG	57M/SEG
7	27M/SEG		48M/SEG	70M/SEG
8	37M/SEG		52M/SEG	67M/SEG
9	30M/SEG		49M/SEG	70M/SEG
10	30M/SEG		49M/SEG	69M/SEG

## **CONCLUSIONES**

La descompresión quirúrgica se les realizó a todos los pacientes ya que la patología de base es compresiva y la única alternativa es la quirúrgica a todos los pacientes se les administro glicina en forma oral, 1 gm. por 24 hs., en una sola toma. Se concluyo que la administración de glicina vía oral mejora la velocidad de conducción en el nervio mediano y este beneficio permite suponer que es de utilidad en los pacientes con patología de conducción de nervios periféricos.

## BIBLIOGRAFIA

1. Zhong Z, Enomoto N, Connor HD, Moss N, Mason RP y Thurman RG: Glycine improves survival after hemorrhagic shock in the rat. *Shock*, 1999, 12:54-62.
2. Serrano L, Neira JL, Sancho J y cols.: Effect of alanine versus glycine in  $\alpha$ -helices on protein stability. *Nature*, 1992, 356:453-455.
3. Steinert PM, Mack JW, Korge BP et al.: Glycine loops in proteins: Their occurrence in certain intermediate filament chains, loricrins and single-stranded RNA binding proteins. *Int J Biol Macromol*, 1991, 13:130-139.
4. Mackay K, Raghunath M, Superti-Furga A y cols.: Ehlers- Danlos syndrome type IV caused by Gly400Glu, Gly595Cys and Gly100Asp substitutions in collagen III: clinical features, biochemical screening and molecular confirmation. *Clin Genet*, 1996, 49:286-295.
5. Yang W, Battineni ML y Brodsky B: Amino acid sequence environment modulates the disruption by osteogenesis imperfecta glycine substitutions in collagen-like peptide. *Biochemistry*, 1997, 36:6930-6945.
6. Lee JY, Pulkkinen L, Liu HS y cols.: A glycine-to-arginine substitution in the triple-helical domain of type VII collagen in a family with dominant dystrophic epidermolysis bullosa pruriginosa. *J Invest Dermatol*, 1997, 108:947-949.
7. Malwal Y, Paradis K y Qureshi IA: Developmental profile of mitochondrial glycine N-acyltransferase in human liver. *J Pediatr*, 1997, 130:1003-1007.
8. Amelsberg A, Schteingart CD, Ton-Un HT y cols.: Carrier-mediated jejunum absorption of conjugated bile acids in the guinea pig. *Gastroenterology*, 1996, 110:1098-1106.
9. Seva C, Dickinson CJ y Yamada T: Growth-promoting effects of glycine-extended progastrin. *Science*, 1994, 265:410-412.
10. Milgram SL, Kho ST, Martin GV y cols.: Localization of integral membrane peptidylglycine  $\alpha$ -amidating monooxygenase in neuroendocrine cells. *J Cell Sci*, 1997, 110:695-706.
11. Kunin CM, Hua TH, Van Arsdale White L y cols.: Growth of *Escherichia coli* in human urine: Role of salt tolerance and accumulation of glycine betaine. *J Infect Dis*, 1992, 166:1311-1315.
12. Laniado ME, Abel PD y Lelani EN: Ion channels: New explanations for old diseases. *Br Med J*, 1997, 315:1171-1172.
13. Jentsch TJ y Gunther W: Chloride channels: An emerging molecular picture. *Bioessays*, 1997, 19:117-126.
14. Ortells MO y Lunt GG: Evolutionary history of the ligand-gated ion-channel superfamily of receptors. *Trends Neurosci*, 1995, 18:121-127.
15. Rajendra S, Lynch JW, Schofield PR: The glycine receptor. *Pharmacol Ther*, 1997, 73:121-146.
16. Kuhse J, Betz H y Kirsch J: The inhibitory glycine receptor: Architecture, synaptic localization and molecular pathology of a postsynaptic ion-channel complex. *Curr Opin Neurobiol*, 1995, 5:318-323.
17. Simpson RK Jr, Robertson CS y Goodman JC: Glycine: An important potential component of spinal shock. *Neurochem Res*, 1993, 18:887-892.
18. Araki T, Ito M y Oscarsson O: Anion permeability of the synaptic and non-synaptic motoneurone membrane. *J Physiol*, 1961, 159:410-435.
19. Aprison MH y Werman R: The distribution of glycine in cat spinal cord and roots. *Life Sci*, 1965, 4:2075-2083.

20. Davidoff RA, Graham LT Jr, Shank RP, Werman R y Aprison MH: Changes in amino acid concentrations associated with loss of spinal interneurons. *J Neurochem*, 1967, 14:1025-1031.
21. Hokfelt T y Ljungdahl A: Light and electron microscopic autoradiograph on spinal cord slices after incubation with labeled glycine. *Brain Res*, 1971, 32:189-194.
22. Werman R, Davidoff RA y Aprison MH: Inhibition of motoneurons by ionophoresis of glycine. *Nature*, 1967, 214:681-683.
23. Curtis DR, Hosli L, Johnston GAR y Johnston IH: The hiperpolarization of spinal motoneurons by glycine and related amino acids. *Exp Brain Res*, 1968, 5:235-258.
24. Curtis DR, Hosli L y Johnston GAR: A pharmacological study of the depression of spinal neurones by glycine and related amino acids. *Exp Brain Res*, 1968, 6:1-18.
25. Curtis DR: The depression of spinal inhibition by electrophoretically administered strychnine. *Int J Neuropharmacol*, 1962, 1:239-250.
26. Young AB y Snyder SH. Strychnine binding associated with glycine receptors of the central nervous system. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1973, 70:2832-2836.
27. Ikejima K, Qu W, Stachlewitz RF y Thurman RG: Kupffer cells contain a glycine-gated chloride channel. *Am J Physiol*, 1997, 272:G1581-G1586.
28. Stachlewitz RF, Ikejima K y Thurman RG: Increases in intracellular calcium in neutrophils (PMNs) due to formyl-methionine-leucine-phenylalanine (FMLP) and endotoxin are blocked completely by glycine. *Hepatology*, 1995, 22:1105.
29. Pfeiffer F y Betz H: Solubilization of the glycine receptor from the rat spinal cord. *Brain Res*, 1981, 226:273-279.
30. Pfeiffer F, Graham D y Betz H: Purification by affinity chromatography of the glycine receptor of rat spinal cord. *J Biol Chem*, 1982, 257:9389-9393.
31. Pfeiffer F, Simler R, Grenningloh G y Betz H: Monoclonal antibodies and peptide mapping reveal structural similarities between the subunits of the glycine receptor of rat spinal chord. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984, 81:7224-7227.
32. Grenningloh G, Schmieden V, Schofield PR y cols.: Alpha subunit variants of the human glycine receptor: primary structures, functional expression, and chromosomal localization of the corresponding genes. *EMBO J*, 1990, 9:771-779.
33. Handford CA, Lynch JW, Baker E y cols.: The human glycine receptor beta subunit: primary structure, functional characterization and chromosomal localization of the human and murine genes. *Brain Res Mol Brain Res*, 1996, 35:211-219.
34. Ryan SG, Buckwalter MS, Lynch JW y cols.: A missense mutation in the gene encoding the alpha 1 subunit of the inhibitory glycine receptor in the spasmodic mouse. *Nat Genet*, 1994, 7:131-135.