



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

Entidad Académica: INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN

Evaluación de la capacidad de un suplemento oral de glicina para disminuir la inflamación bronquial en niños con fibrosis quística

Tesis

Que para optar por el grado de
MAESTRÍA EN CIENCIAS

Presenta

DRA. ROSANGELA DEL RAZO RODRÍGUEZ

Tutor principal

DR. MARIO HUMBERTO VARGAS BECERRA

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas

Ciudad de México, agosto 2021



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.

Dr. Mario Humberto Vargas Becerra

Neumólogo, Maestro en Ciencias, Miembro del SNI nivel 3
Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Respiratorias, Hospital de Pediatría, Centro
Médico Nacional Siglo XXI, IMSS
Departamento de Investigación en Hiperreactividad Bronquial, INER

Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas

Responsable de la Entidad Académica Sede INCMNSZ

INVESTIGADORES ASOCIADOS

Dr. Amando López García

Neumopediatra

Departamento de Neumología, Hospital de Pediatría, CMN Siglo XXI, IMSS

Dr. Jaime Chávez Alderete

Biólogo, Doctor en Ciencias, Miembro del SNI nivel 1

Departamento de Investigación en Hiperreactividad Bronquial, INER

Dr. José Luis Lezana Fernández

Neumopediatra

Servicio de Neumología y Fisiología Pulmonar, Clínica de Fibrosis Quística, HIM

Asociación Mexicana de Fibrosis Quística, A. C.

Dra. María Elena Yuriko Furuya Meguro

Neumopediatra, Doctor en Ciencias, Miembro del SNI nivel 1

Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Respiratorias, Hospital de Pediatría,

CMN Siglo XXI, IMSS

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo está dedicado a Dios, por darme la oportunidad de servir a los demás, por mostrarme amor en todas sus acciones por poco que pueda comprenderlas.

A mi esposo, David, por compartir tantos buenos momentos, por ser mi soporte en los momentos difíciles y no dejarme colapsar.

A mi hija, Regina, simplemente por ser la razón de mi vida y la luz que ilumina todos mis días.

A mi maestro, el Dr. Vargas, por ser mi guía en este camino y no perder la esperanza.

A mis profesores de la Maestría del INCMNSZ, en especial al Dr. Ponce de León por ser mi ejemplo a seguir en la investigación; al Dr. Ulloa por sus enseñanzas.

A los niños con fibrosis quística y sus familiares, todos y cada uno de ustedes han aportado un gran aprendizaje en mi vida.

Gracias.

*Lo único que se interpone entre tú y tu sueño,
es la voluntad de intentarlo
y la creencia de que en realidad es posible.*

Joel Brown

CONTENIDO

ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO	4
JUSTIFICACIÓN	9
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	10
HIPÓTESIS	10
OBJETIVOS	10
Objetivo principal	10
Objetivos secundarios	11
MATERIAL Y MÉTODOS	11
Diseño del estudio	11
Criterios de selección	13
<i>Criterios de inclusión</i>	13
<i>Criterios de exclusión</i>	14
<i>Criterios de eliminación</i>	14
Definiciones operacionales	14
Tamaño de la muestra	18
Análisis estadístico	18
CONSIDERACIONES ÉTICAS	19
RESULTADOS	19
DISCUSIÓN	31
CONCLUSIONES	33
CONFLICTOS DE INTERÉS	34
FINANCIAMIENTO	34
REFERENCIAS	35
ANEXO 1. CUESTIONARIO DE SÍNTOMAS	41
ANEXO 2. CRITERIOS DE EXACERBACIÓN	42
ANEXO 3. CONSENTIMIENTO INFORMADO	43
ANEXO 4. ASENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE	45

ABREVIATURAS

CFRT	Regulador de la conductancia transmembranal de la FQ
EGF	Factor de crecimiento epidérmico
FEF ₂₅	Flujo espiratorio al 25% de la FVC
FEF ₅₀	Flujo espiratorio al 50% de la FVC
FEF ₇₅	Flujo espiratorio al 75% de la FVC
FEV ₁	Volumen espiratorio forzado al primer segundo
FQ	Fibrosis quística
FVC	Capacidad vital forzada
FVC	Capacidad vital forzada
G-CSF	Factor estimulante de colonias de granulocitos
GlyR	Receptor de glicina
HMGB-1	Proteínas de alta movilidad del grupo 1
LTB ₄	Leucotrieno B ₄
mMCP-1	Proteasa de mastocitos de ratón 1
PDGF	Factor de crecimiento de plaquetas
rhDNasa	Desoxirribunucleasa recombinante humana
SpO ₂	Saturación periférica de oxígeno
TNF- α	Factor de necrosis tumoral

RESUMEN

Antecedentes. La fibrosis quística (FQ) es una enfermedad causada por una mutación en el gen del *regulador de la conductancia transmembranal de la FQ* (CFRT), que es un canal de cloro, lo que fisiopatológicamente se traduce como una alteración del transporte de cloro a través de las células epiteliales de las glándulas exócrinas. Tiene una herencia autosómica recesiva y a nivel pulmonar se caracteriza por moco deshidratado que causa obstrucción bronquial. Se han detectado neutrófilos y citocinas proinflamatorias en el lavado broncoalveolar de niños con FQ que no tienen infección bacteriana. El moco espeso y la inflamación causan un círculo vicioso en el que la vía aérea se coloniza por bacterias que aumentan la inflamación, la cual es persistente y ocasiona cambios irreversibles en la morfología bronquial, dando lugar a bronquiectasias. Todo esto origina deterioro del mecanismo de aclaramiento mucociliar y favorece también la sobreinfección bacteriana. El tratamiento de la FQ es multidisciplinario e incluye tratar de disminuir la inflamación de la vía aérea usando, por ejemplo, corticosteroides, ibuprofeno o macrólidos. **Glicina como antiinflamatorio.** La glicina es un aminoácido agonista de los receptores de glicina (GlyR) que al activarse provocan la entrada de cloro a la célula y favorecen la hiperpolarización de la membrana. En el sistema nervioso central es un neurotransmisor inhibitorio; en macrófagos alveolares, células de Kupffer y neutrófilos puede disminuir su sensibilidad a estímulos proinflamatorios, lo que evita la producción de factor de necrosis tumoral (TNF- α) y de anión superóxido y disminuye la inflamación pulmonar neutrofílica. La glicina por vía oral no tiene efectos adversos relevantes reportados.

Objetivos. Determinar el efecto de un suplemento diario de 0.5 g/kg de glicina por 8 semanas sobre la concentración de biomarcadores de inflamación en el esputo y en sangre periférica de niños con FQ, así como analizar el efecto sobre la intensidad de los síntomas respiratorios y sobre la función pulmonar evaluada mediante espirometría.

Material y métodos. Es un ensayo clínico aleatorizado y cruzado, de dos ramas (experimental y placebo – azúcar glass–), cegado para el médico tratante, el paciente y sus familiares. La fase inicial fue de 8 semanas, seguida de 2 semanas de periodo de lavado y posteriormente se hizo el cruce de ramas continuando con la segunda fase de 8 semanas más (duración total 18 semanas).

Resultados. Trece pacientes de 6.2 - 23.6 años (8 mujeres) completaron el estudio. En comparación con la fase de placebo, después de tomar glicina hubo mejoría en puntajes del cuestionario de síntomas ($p=0.02$), principalmente en la producción de esputo y sensación de disnea. Las variables espirométricas tendieron a disminuir durante la fase de placebo, pero fueron estables o incluso mejoraron durante el tratamiento con glicina ($p=0.04$ a 0.003). En especial, el volumen espiratorio forzado al primer segundo (FEV₁) disminuyó 8.6% después del placebo pero incrementó 9.7% al final del período con glicina. La oximetría de pulso mejoró después de la administración de glicina ($p=0.04$ vs placebo). El TNF- α en suero, así como la IL-6 y el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) en esputo tendieron a disminuir al final del período con glicina ($p=0.061$, $p=0.068$ y $p=0.04$, respectivamente, vs placebo). La glicina fue bien tolerada.

Conclusión: El estado clínico, espirométrico e inflamatorio en pacientes con FQ mejoró después de 8 semanas de tomar glicina, lo que sugiere que este aminoácido podría constituir una herramienta terapéutica novedosa para estos pacientes.

ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO

Fibrosis quística e importancia de la inflamación bronquial

La fibrosis quística (FQ) es una enfermedad multisistémica, hereditaria (autosómico recesiva), producto de mutaciones en el gen del brazo largo del cromosoma 7 que codifica para la proteína *regulador de la conductancia transmembranal de fibrosis quística* (CFTR, por sus siglas en inglés)[1].

Genética. El gen del CFTR consta de 250 Kb y tiene 27 exones. Se han encontrado 2000 mutaciones asociadas a la FQ y se reportan a la base de datos del *CF Genetic Analysis Consortium* (www.genet.sickkids.on.ca/cftr/) y en *Cystic Fibrosis Mutation Database*. La mayoría de las mutaciones involucran a tres o menos nucleótidos, como mutaciones, sustituciones, deleciones, empalmes [2-4]. La mutación más común y primera identificada es la p.Phe508del (anteriormente conocida como $\Delta F508$), que es una deleción de pares de bases que codifica a una fenilalanina en la posición 508 en la proteína CFTR y que ocurre en el 70-90% de los alelos de los pacientes de raza blanca con FQ [1, 5].

Epidemiología. Se estima que en el mundo existen 80,000 individuos con esta enfermedad [1, 6, 7]. La FQ puede presentarse en todos los grupos raciales y étnicos, aunque es más común en caucásicos en quienes tiene una incidencia de 1 por cada 3500 recién nacidos vivos [4, 7]. En México se considera una enfermedad subdiagnosticada y no existen datos precisos sobre su incidencia. En 1980, López y col. reportaron 32 casos de FQ en 3,260 autopsias de niños mexicanos, dando una frecuencia del 0.98% [8]. Aunque la FQ es un complejo multiorgánico, la patología pulmonar causa el 85% de la mortalidad, que suele ocurrir por insuficiencia respiratoria. Gracias a tratamientos más eficaces y a la introducción de nuevas alternativas terapéuticas se ha logrado mejorar la calidad de vida y prolongar la sobrevivida de los pacientes con FQ, que en los últimos años es de aproximadamente 40 años [4, 9].

Fisiopatología. Las mutaciones del gen *CFTR* causan defectos en el procesamiento o tráfico intracelular de la proteína CFTR, lo que hace que esté reducida su cantidad en la superficie apical de las células epiteliales. La proteína Phe508del CFTR también exhibe un canal defectuoso, que además limita el transporte de aniones [1]. La disfunción de la proteína CFTR provoca alteración del transporte iónico en la membrana apical de las células epiteliales en distintos órganos, principalmente del sodio y cloro [4, 10, 11]. Dicha disfunción del CFTR causa una conductancia anormal del cloro y bicarbonato en la membrana apical de las células epiteliales, afectando en especial a las glándulas exócrinas, al páncreas, al sistema gastrointestinal, las glándulas sudoríparas y al aparato respiratorio, entre otros órganos y sistemas [1]. Cuando la mutación ocurre en una o ambas copias del gen el transporte mucociliar en el pulmón es defectuoso y el resultado final es una depleción del líquido de la superficie, por lo cual el moco de las vías respiratorias es excesivamente espeso y deshidratado, lo que provoca obstrucción de la luz

traqueobronquial [4, 12]. Se han detectado neutrófilos y citocinas proinflamatorias como la IL-8 en el lavado bronquioloalveolar de niños con FQ sin infección bacteriana, por lo que es probable que exista un proceso inflamatorio aséptico desde etapas tempranas de la vida [13-15]. Además, el moco espeso y la inflamación primaria condicionan la aparición de un círculo vicioso [16-18], como se describe a continuación:

a) La vía aérea del paciente con FQ es colonizada por bacterias como *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Hemophilus influenzae*, que incrementan el proceso inflamatorio.

b) La destrucción de las células inflamatorias hace que el moco contenga DNA, el cual es un factor que altera la reología del moco, haciéndolo aún más viscoso.

c) La inflamación persistente de la vía aérea ocasiona cambios irreversibles en la pared bronquial (bronquiectasias).

En conclusión, estas condiciones originan deterioro del mecanismo de limpieza mucociliar y favorecen la sobreinfección bacteriana.

Factores inflamatorios asociados. La inflamación de la vía aérea es predominantemente neutrofílica en la mayoría de los pacientes con FQ [16, 19, 20]. Los mediadores que promueven la afluencia de neutrófilos al pulmón incluyen a la interleucina (IL)-8, factores quimiotácticos derivados del complemento y leucotrieno (LT)B₄ [16, 21], además del factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), IL-17 y las proteínas de alta movilidad del grupo 1 (HMGB-1) [22]. Sin embargo, en la FQ, la IL-8 producida por neutrófilos, células epiteliales y macrófagos, es el principal agente quimiotáctico [16, 23], además de la IL-17 que se conoce que en infecciones crónicas, promueve el flujo de neutrófilos [24]. Algunos estudios han mencionado que la función pulmonar tiene una correlación inversa con biomarcadores de inflamación en esputo [25].

Función respiratoria. El FEV₁ es el marcador primario de progresión de la enfermedad, suele tener un descenso de 2% anual aproximado [26] y algunos estudios lo identifican como predictor de supervivencia y deterioro del estado funcional en general [27]. Por lo tanto, el FEV₁ se usa para evaluar la eficacia clínica de las modalidades terapéuticas nuevas en la FQ [28].

Tratamiento. El tratamiento de la FQ se basa en mejorar el aspecto nutricional con la administración de suplementos de enzimas pancreáticas y vitaminas, así como una dieta apropiada; el uso de ursodesoxicolato parece retrasar la progresión de lesiones hepáticas y, desde el punto de vista neumológico, se usan medidas para fluidificar el moco (p.ej., con inhalación de una enzima recombinante que degrada al DNA, la rhDNasa) y el control de las exacerbaciones de la infección pulmonar [18, 29]. La tobramicina inhalada durante 10 días de cada mes evita el deterioro de la función pulmonar [30]. Además, se ha intentado disminuir directamente la

inflamación bronquial mediante diversos fármacos dado el papel de la inflamación en el deterioro funcional [31, 32]. Entre los medicamentos más estudiados están los corticosteroides y el ibuprofeno a dosis altas. Ambos han demostrado un efecto benéfico evitando el deterioro de la función pulmonar [33, 34]; sin embargo, su uso es limitado debido a que aún existen dudas sobre su efecto o por temor a sus posibles efectos secundarios a largo plazo [35]. Recientemente se han usado macrólidos o cetólidos como la azitromicina, por lapsos variables de entre 3 meses y 3 años, pues estos antibióticos poseen un efecto antiinflamatorio [32, 36], mostrando que este tratamiento produce un incremento de la capacidad vital forzada (FVC) y el FEV₁ de alrededor del 4%. A pesar de los beneficios observados del tratamiento antiinflamatorio, en los Estados Unidos se calcula que sólo el 12% y 8% de los pacientes con FQ usan corticosteroides inhalados o ibuprofeno, respectivamente [35]. Entre las alternativas terapéuticas, se encuentran las técnicas para mejorar el aclaramiento mucociliar, como es el uso de solución hipertónica, la cual ha mostrado ser más efectiva que la isotónica nebulizada, ya que mejora la expectoración y la viscosidad del esputo [37].

Actualmente las estrategias terapéuticas más novedosas se encuentran dirigidas a restaurar la función del CFTR de forma dirigida mediante moduladores de su actividad. Estas terapias incluyen pequeñas moléculas correctoras que incrementan la expresión en la superficie celular al mejorar el procesamiento y el tráfico de CFTR, así como pequeñas moléculas potencializadoras que aumentan la unión al canal. Ejemplo de estas moléculas son: elexacaftor, tezacaftor e ivacaftor. Ya que la mutación p.Gly551Asp (antes conocida como *G551D*) es una mutación clase III, en la que el defecto se da en la regulación del canal, dado que el CFTR alcanza la superficie celular pero no se abre correctamente para transporte de cloro, una alternativa al tratamiento es el ivacaftor [4] ya que restaura la actividad del canal de cloro permitiendo que el canal CFTR permanezca abierto. Igualmente, su uso se ha asociado a una reducción en la adhesión de neutrófilos y a una disminución en la prevalencia de *P. aeruginosa*, incluyendo la cepa mucoide y *Aspergillus spp* [24].

Existe un estudio publicado fase 3, aleatorizado, doble ciego, controlado por placebo, realizado por Middleton y col., publicado en 2019 [1] en el que se usó una combinación de estos tres medicamentos (elexacaftor, tezacaftor e ivacaftor) en 403 pacientes con mutación p.Phe508del, encontrándose eficaz en aquellos pacientes en que se ha intentado los medicamentos por separado sin mejoría. Se demostró que mejoran el FEV₁ a las 4 semanas y se mantiene a las 24 semanas, disminuye el número de exacerbaciones, así como el puntaje de síntomas del *Cystic Fibrosis Questionnaire-Revised*. También disminuye los niveles de cloro en sudor lo que fue estadísticamente significativo ($p < 0.001$). Sin embargo, tiene efectos adversos de leves a moderados (rash e hipertensión portal). Dado el costo excesivo, no se encuentran disponibles en nuestro medio.

También se encuentra la opción en países de primer mundo del trasplante pulmonar [4], principalmente en aquellos que tienen bronquiectasias graves, en etapas terminales o que el FEV₁ es menor del 30%. La media de la supervivencia después del trasplante en niños es de 4.7 años, para adultos de 7.8 años [38].

Papel de la glicina como antiinflamatorio

La glicina es un aminoácido no esencial formado por un carbono central α , al que están unidos covalentemente un grupo ácido carboxílico y un grupo amino, dando su fórmula: $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$. Su peso molecular es de 75.0666 g/mol.

Físicamente es un polvo cristalino, blanco e inoloro de sabor ligeramente dulce, fácilmente soluble en agua y de costo accesible (alrededor de \$350 pesos el kilogramo). Funciona como un agonista para receptores específicos llamados GlyR que funcionan como canales de cloro, por lo que al unirse con su agonista provocan entrada de cloro a la célula y favorecen la hiperpolarización de la membrana [39]. Por lo tanto, en algunas células como las células de Kupffer, neutrófilos, macrófagos alveolares y linfocitos, hace que sean menos sensibles a estímulos proinflamatorios, mientras que en células excitables como las neuronas la glicina funciona como un neurotransmisor inhibitorio. [40, 41]. Existen diversas familias de canales de cloro y difieren tanto en su estructura química como en su localización; el canal de cloro activado por glicina pertenece a una familia diferente a la del CFTR [39].

Algunos estudios hechos en animales de laboratorio muestran que la glicina es un agente que puede tener un efecto antiinflamatorio potente ante ciertos estímulos. Así, en 1996, Ikejima y col. demostraron que una dieta enriquecida con 5% de glicina en un modelo de choque endotóxico en ratas disminuía las lesiones hepáticas y la mortalidad, a la vez que evitaba la elevación sérica de $\text{TNF-}\alpha$ [42]. En 2000 Wheeler y col. observaron en dicho modelo de choque endotóxico que 4 semanas de administración de dietas con 5% de glicina también disminuía la inflamación pulmonar neutrofílica, en comparación con animales controles que consumieron dieta con 5% de caseína [43]. En México estudios publicados por Alarcón-Aguilar y col. en 2008 y Almanza-Pérez y col. en 2010 reportaron que la glicina disminuye la expresión y los niveles de factor de necrosis tumoral alfa ($\text{TNF-}\alpha$) e IL-6 en tejido adiposo de ratones [44, 45]. En estudios *in vitro* se ha corroborado la capacidad de la glicina para evitar la producción de $\text{TNF-}\alpha$ y de anión superóxido en macrófagos alveolares estimulados con lipopolisacáridos [46], así como de $\text{TNF-}\alpha$ e IL-6 en células 3T3-L1 [47]. Además, otros estudios en modelos animales han encontrado que la glicina protege al intestino y al pulmón de la lesión por isquemia-reperfusión [48, 49], que es un tipo de lesión donde se considera que los neutrófilos desempeñan un papel importante en la producción del daño endotelial [50].

Estudios recientes, como el de Sá y col. en 2018 [51], reconoce que la glicina tiene propiedades antiinflamatorias, inmunomoduladoras y citoprotectoras, por lo que prueban su efecto en el colágeno y factores de crecimiento, tanto de plaquetas (PDGF) como epidérmico (EGF) en un modelo en hámster con mucositis oral. Siendo un estudio con grupo control, se demostró que el grupo que recibió glicina al 5% intraperitoneal por 7 días tuvo mayores niveles de expresión de colágeno y predominantemente tipo I, también tuvieron menor inmunoexpresión de factores de crecimiento mencionados, mostrando un marcado proceso de curación de la mucositis oral.

Concluyen que hipotéticamente el uso de glicina puede estar asociado con menor estímulo inflamatorio o simultáneo con efectos citoprotectores generados por la glicina contra la apoptosis.

En el mismo año, van Bergenhenegouwen y col. [41] tomaron ratones hembra que fueron suplementados con una carga de glicina oral (50-100 mg/ratón) 4 h antes de ser sensibilizados a la proteína de la leche de vaca usando una toxina del cólera inyectada en el oído, lo cual produjo reacciones alérgicas cutáneas y anafilaxia. Se midió la proteasa de mastocitos de ratón 1 (mMCP-1) y niveles de IgE específicos en sangre a los 30 min de la administración oral del alérgeno. Se disecó el yeyuno. El grupo que recibió glicina tuvo una reducción en la respuesta alérgica, la anafilaxia, la mMCP-1 sérica y los niveles de IgE específicos, por lo que se hace la hipótesis de que la glicina oral puede prevenir una alergia a las proteínas de la leche de vaca mediante la inhibición de IL-4 e IL-13, que son fundamentales en la cascada alérgica reactiva. Otra teoría es que la glicina puede atenuar la activación de mastocitos disregulados o no controlados, lo que puede prevenir la pérdida de homeostasis intestinal que promueve la inflamación y puede conducir a enfermedades gastrointestinales como la alergia alimentaria.

Usos de glicina en seres humanos y efectos adversos

En el ser humano la glicina se ha utilizado desde hace más de 50 años como solución de lavado durante la cirugía de próstata [52] y desde hace más de 60 años se menciona como una medida terapéutica para la miastenia gravis y la distrofia muscular progresiva [53]. El único efecto adverso de la glicina que se ha reportado durante estos tratamientos es la hiponatremia hipoosmolar.

En México, Carbajal y col. han empleado la glicina para el manejo adicional de la diabetes mellitus debido a su capacidad para disminuir la glicosilación no enzimática de proteínas [54]. En este último estudio 38 pacientes adultos con diabetes tomaron glicina durante un lapso variable (2 a 57 meses) a dosis de 20 g/día disuelta en líquidos, aparentemente sin experimentar efectos adversos y obteniendo una disminución de la hemoglobina glicosilada. Más recientemente, Cruz y col. administraron 5 g diarios de glicina a 74 pacientes con diabetes mellitus tipo 2, y después de 3 meses encontraron una disminución significativa del TNF- α sérico y de la hemoglobina glicosilada [47].

En un estudio en el que se investigaba el efecto de la glicina sobre la reestenosis después de angioplastia coronaria, un total de 111 pacientes recibieron 298 g de glicina por vía oral dos veces al día durante 6 meses [55]. Si bien la glicina no modificó la proporción de pacientes con reestenosis, tampoco se observaron efectos adversos atribuibles a este aminoácido. Entre 1996 y 1999, Heresco-Levy y col. estudiaron 33 pacientes con esquizofrenia resistentes a tratamiento a quienes administraron glicina por vía oral por 6 semanas a dosis de 0.8 g/kg/día. Estos autores observaron una reducción importante de los síntomas psiquiátricos y, sólo en 3 pacientes hubo náusea y vómito como posibles efectos adversos, aunque no se pudo concluir que hayan sido secundarios a la ingestión de glicina [56, 57]. Fries y col. estudiaron a un paciente de 8 años de edad con diagnóstico de acidemia isovalérica a quien le administraron glicina por vía oral a dosis

de 250 mg/kg/día, asociado a L-carnitina a dosis de 100 mg/kg/día, por un periodo de 21 días [58]. El tratamiento fue bien tolerado por el paciente y, como se esperaba, incrementó la excreción urinaria del ácido isovalérico. File y col. en 1998, estudiaron los efectos benéficos de la glicina (2 mg/kg/día por 7 días) sobre la memoria y atención de 30 adolescentes y adultos jóvenes [59]. Los autores encontraron una mejoría en la memoria y atención, sin efectos adversos.

Con respecto a la farmacocinética de la glicina, un estudio en 18 voluntarios adultos encontró que la vida media plasmática de glicina, después de la administración intravenosa de entre 15 y 22 g, varió entre 26 y 245 min, siendo mayor mientras más alta era la dosis [60]. Por otro lado, se ha encontrado que la administración diaria de 0.8 g/kg de glicina produjo un incremento significativo de la concentración sérica de este aminoácido, que pasó de 278.3 nmol/mL en condiciones basales a 942.1 nmol/mL al final de las 6 semanas de tratamiento [57]. En otro estudio de 9 sujetos sanos hecho por Gannon M en el 2002, se les administró glicina por vía oral en dosis de 1 mmol/kg de peso (75 mg/kg) se encontró que la concentración basal de glicina fue de 217 ± 21 $\mu\text{mol/L}$ e incrementó a un máximo de 909 ± 106 $\mu\text{mol/L}$ en 40 minutos, después de los cual ésta descendía casi hasta su punto basal. Al final del estudio, a las 2 hrs de administrado, de cualquier forma, las concentraciones plasmáticas de glicina fueron elevadas (414 $\mu\text{mol/L}$).

Por todo lo anterior y, considerando que los niños con FQ cursan con un proceso inflamatorio importante en su vía aérea y que la glicina tiene efectos antiinflamatorios, aparentemente sin efectos adversos relevantes, se realizó el siguiente estudio para evaluar la capacidad de este aminoácido para disminuir la inflamación de la vía aérea en niños con FQ.

JUSTIFICACIÓN

A pesar de los avances en investigaciones para el tratamiento de la FQ, logrando una mayor sobrevida de estos pacientes, dicha enfermedad tiene un proceso inflamatorio bronquial importante con pérdida progresiva de la función pulmonar que lleva hacia la muerte. Previamente se han utilizado fármacos antiinflamatorios (corticoides, ibuprofeno, macrólidos), para disminuir dicha inflamación bronquial, pero a pesar de su efecto benéfico tienen el inconveniente de sus efectos secundarios o su costo. Consideramos que es importante identificar medidas adyuvantes que ofrezcan disminuir la inflamación de la vía aérea. En el presente estudio evaluamos si la glicina, aminoácido bien tolerado y de bajo costo, disminuye la inflamación bronquial.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el momento actual es importante continuar con la búsqueda de alternativas terapéuticas que disminuyan la inflamación bronquial en los pacientes con FQ ya que el tratamiento de elección es de un precio elevado, poco accesible para la mayoría de los pacientes en México, además de presentar efectos secundarios. Por lo anterior se propone que la glicina puede disminuir la inflamación bronquial en estos pacientes en base a estudios previos.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Qué efecto tendrá en la inflamación de la vía aérea de los niños con FQ la administración oral de un suplemento de glicina?

HIPÓTESIS

En comparación con placebo, un suplemento diario de glicina administrado durante 8 semanas a niños con FQ producirá disminución de la inflamación bronquial, medida por biomarcadores inflamatorios en suero y esputo, así como mejoría sintomática y disminución de la caída de la función pulmonar.

OBJETIVOS

Objetivo principal

Determinar el efecto de un suplemento diario de 0.5 g/kg de glicina por 8 semanas en la concentración de biomarcadores de inflamación en el esputo y en sangre periférica de niños con FQ, incluyendo: TNF- α , factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), interferón γ (IFN- γ), IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12(p70), IL-13, IL-17a, mieloperoxidasa (MPO), proteína inflamatoria de macrófagos 1 β (MIP-1 β) y proteína quimiotáctica de monocitos 1 (MCP-1).

Objetivos secundarios

1. Analizar el efecto de un suplemento diario de 0.5 g/kg de glicina por 8 semanas sobre la intensidad de los síntomas respiratorios en niños con FQ.
2. Determinar el efecto de un suplemento diario de 0.5 g/kg de glicina por 8 semanas sobre la función pulmonar evaluada mediante espirometría en niños con FQ.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del estudio

Es un ensayo clínico aleatorizado de tipo cruzado de dos ramas (experimental y placebo), cegado para el médico tratante y para el paciente y sus familiares (**Figura 1**). La fase inicial fue de 8 semanas, seguida de un período de lavado de 2 semanas (es el tiempo que ha sido usado en estudios previos) [49,50]. La vida media de la glicina es rápida (de entre 26 y 245 minutos una vez administrada por vía intravenosa), por lo que consideramos que 2 semanas era suficiente para que su concentración hubiese descendido a niveles basales. Posterior al período del lavado, se hizo el cruce de las ramas con una segunda fase de 8 semanas más.

Descripción general del estudio

El estudio se realizó en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas (INER), el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI (IMSS) y en el Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIM). A los niños con FQ que asisten a estos centros se les invitó a participar si cumplían los criterios de inclusión. En la visita inicial se obtuvo la firma del

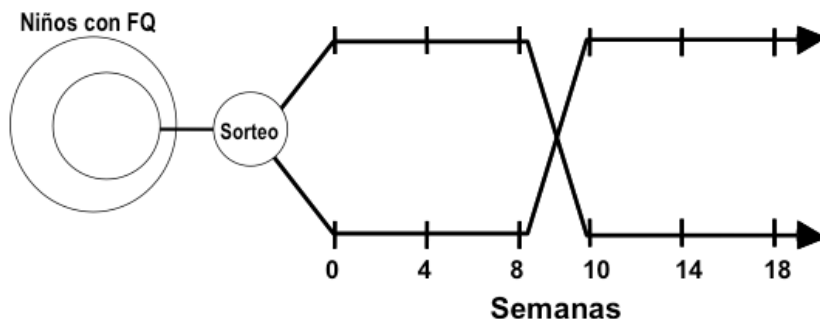


Figura 1. Diseño del estudio y plan de visitas

consentimiento informado de los tutores legales del paciente, aleatoriamente se asignó a una de las dos ramas iniciales y se le proporcionó un bote con 500 g de glicina o con 500 g de placebo (azúcar glass). Todos los botes tuvieron una apariencia similar. Se citó a visitas de revisión a las 4, 8, 10, 14 y 18 semanas. En la visita inicial y en cada una de las visitas subsecuentes se renovó la dotación de glicina o placebo, se aplicó un cuestionario de síntomas (**anexo 1**) y se realizó espirometría y toma de muestras de esputo y de 2 ml de sangre periférica que fueron repartidos en alícuotas de 0.5 ml en tubos MicroTainer®. La **tabla 1** muestra el cronograma de actividades realizadas durante las visitas del protocolo.

Tabla 1. Cronograma de actividades durante las visitas de estudio.

Actividad	0	4	8	10	14	18
Consentimiento informado	X					
Asignación de grupo	X					
Dotación de glicina o placebo	X	X	X	X	X	X
Cuestionario	X	X	X	X	X	X
Espirometría	X	X	X	X	X	X
Muestra de esputo y sangre	X	X	X	X	X	X

Glicina (presentación y dosificación)

La glicina grado USP se compró directamente a una compañía dedicada a la venta de productos químicos (Droguería Cosmopolita, S.A. Av. Revolución #1080, Ciudad de México. Tel. 55939208), que a su vez la importa de los Estados Unidos.

La dosis de glicina que se empleó fue de 0.5 g/kg/día por vía oral, disuelta en cualquier líquido y repartida en tres tomas. Esta dosis se basó en diversas consideraciones: En adultos mexicanos con diabetes la dosis usual usada en un estudio de Carvajal y col. [54] fue de 20 g/día. Si se toma 60 kg como peso promedio de un adulto mexicano, la dosis equivaldría a 0.333 g/kg/día. Esto coincide con diversos estudios sobre esquizofrenia en adultos (comentados por Heresco y col. [56, 57]), en donde se han empleado dosis de glicina que van de 5 a 30 g/día. En un estudio de estos últimos autores [57] se demostró que una dosis de 0.8 g/kg/día producía un incremento estadísticamente significativo en la concentración de glicina sérica. Finalmente, Fries y col. [58] usaron 0.25 g/kg/día en el manejo de una niña de 8 años con acidemia isovalérica. Por lo anterior, decidimos seleccionar una dosis relativamente intermedia (0.5 g/kg/día).

Placebo

Se usó como placebo azúcar glass que se compró directamente en centros comerciales, seleccionando siempre la misma marca. La apariencia y el sabor de la azúcar glass son muy parecidos a los de la glicina. La dosis de placebo fue la misma que la de glicina (0.5 g/kg/día), repartida en tres tomas. Los botes en que se envasaron tanto la glicina como el azúcar glass eran idénticos, se les asignó un código para identificarlos, conocido únicamente por el investigador responsable de la aleatorización de los pacientes.

Criterios de selección

Criterios de inclusión

1. Pacientes de cualquier sexo y de 5 o más años de edad, ya que es la edad mínima a la que los niños cooperan para realizar la espirometría.
2. Con diagnóstico de FQ de acuerdo a los criterios establecidos de tener una característica fenotípica y demostrar alteración del CFTR según el consenso de 1998 *Cystic Fibrosis Foundation Consensus Panel* [61] y aplicados actualmente en México (AMFQ realiza determinación de electrolitos en sudor por el método de iontoforesis con pilocarpina conforme a los lineamientos del documento C34-A2, publicado por el NCCLS [www.nccls.org]):
 - a. La característica fenotípica puede ser uno o más de los datos clínicos sugestivos de la enfermedad o el antecedente de un hermano con FQ o tener un tamizado neonatal positivo para FQ.
 - b. La demostración de la alteración del CFTR puede ser por electrolitos en sudor con cloro >60 mEq/L en dos muestras separadas o identificación de dos mutaciones del CFTR o demostración de diferencia de potencial nasal anormal.
3. Tratamiento de la FQ sin modificaciones en los últimos 30 días.
4. Sin exacerbación de la infección traqueobronquial en los últimos 30 días (según criterios de exacerbación por Lezana y col. [11] en **anexo 2**).
5. Sin enfermedad aguda de la vía aérea (del tipo del resfriado común) en las últimos 15 días.
6. Que si es adulto firme la carta de consentimiento informado, o bien, si es niño, que los padres o tutores legales acepten su participación en el estudio mediante la firma de la

carta de consentimiento informado (**anexo 3**). En este último caso, si el niño es mayor de 6 años también firmará él una carta de asentimiento (**anexo 4**).

Criterios de exclusión

1. Pacientes que en los últimos 3 meses haya participado en un protocolo de investigación.
2. Pacientes con inmunodeficiencias primarias o secundarias.
3. Pacientes con diabetes.
4. Pacientes con otras patologías respiratorias inflamatorias agregadas, como asma.
5. Pacientes con hiperglicemia no cetótica (error innato del metabolismo de la glicina que impide su degradación, cursan con retraso mental, letargia, hipotonía, convulsiones, causando coma y apneas).

Criterios de eliminación

1. Paciente que presenta efectos adversos serios causados por la glicina (se analizaron por separado).
2. Exacerbación de la infección traqueobronquial.
3. Fallecimiento de pacientes durante el curso de la investigación.
4. Pacientes que no completen el tiempo indicado de administración de glicina o placebo durante el estudio.

Definiciones operacionales

Maniobra

Variable: Suplemento de glicina

Definición conceptual: Ración adicional de glicina, aminoácido cuya estructura química ($\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$) lo hace el más simple de todos los aminoácidos y que en el cuerpo humano funciona como elemento constitutivo de las proteínas y como mediador químico en diversas células.

Definición operacional: Suplemento que se dio a los pacientes durante 8 semanas en dosis de 0.5 g/kg/día, administrado por vía oral en tres tomas al día disuelto en cualquier líquido.

Escala de medición: Dicotómica.

Sus valores serán dados como: Sí (período experimental), No (período control).

Variable: Concentración de biomarcadores

Definición conceptual: concentración de IL-1 β , IL-2, IL-4, IL5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-17A, G-CSF, GM-CSF, IFN- γ , MCP-1, MIP-1 β , TNF- α y mieloperoxidasa en suero de sangre periférica o en el sobrenadante de esputo.

Definición operacional: la misma que la conceptual, siendo medidas por ELISA (en el caso de la mieloperoxidasa) y por multiplex (todos los demás) usando reactivos comerciales.

Escala de medición: continua.

Sus valores serán dados como: pg/mL.

Variable: Síntomas respiratorios

Definición conceptual: manifestaciones clínicas referidas por el paciente, secundario a desórdenes del aparato respiratorio.

Definición operacional: la misma que la conceptual. Se detectarán mediante cuestionario estandarizado (anexo 1).

Escala de medición: continua (calificación obtenida en el cuestionario).

Sus valores serán dados como: 5 a 25 puntos.

Variable: Espirometría

Definición conceptual: medición de flujos y volúmenes exhalados durante una maniobra de espiración forzada, desde capacidad pulmonar total hasta el volumen de reserva.

Definición operacional: la misma que la conceptual. Los parámetros serán FVC, FEV₁, FEV₁/FVC, flujos al 25%, 50% y 75% de la FVC (FEF₂₅, FEF₅₀ y FEF₇₅) y flujo máximo (FEF_{max}).

Escala de medición: continua

Sus valores serán dados como: litros y % del predicho.

Variable: Edad

Definición conceptual: tiempo que ha vivido una persona desde su nacimiento.

Definición operacional: tiempo entre la fecha del estudio y la fecha de nacimiento.

Escala de medición: continua.

Sus valores serán dados como: años.

Peso

Definición conceptual: fuerza resultante de la acción de la gravedad sobre un cuerpo.

Definición operacional: medición del paciente colocándolo sobre una báscula.

Escala de medición: continua.

Sus valores serán dados como: kilogramos.

Talla

Definición conceptual: medición de una persona desde los pies hasta la cabeza.

Definición operacional: el valor de la medición con un estadímetro desde la plano horizontal tangencial al límite superior de la cabeza hasta el plano horizontal tangente a las plantas de los pies.

Escala de medición: continua.

Sus valores serán dados como: centímetros.

Sexo

Definición conceptual: constitución orgánica que distingue entre macho y hembra.

Definición operacional: aspecto fenotípico del paciente que lo distingue en hombre o mujer.

Escala de medición: dicotómica.

Sus valores serán dados como: hombre, mujer.

Espirometría

Se explicó detalladamente y se ejemplificó el procedimiento al paciente. Posteriormente, el sujeto sentado y usando una pinza nasal, realizó una inspiración máxima seguida inmediatamente de una espiración forzada sobre la boquilla de un espirómetro (Master Screen Body, Jaeger, CareFusion, Hoechberg, Alemania, o Elite, Medical Graphics Corporation, St. Paul, MN, EUA), se invitó a que realizara el mayor esfuerzo posible y durante el mayor tiempo posible. La maniobra se repitió por lo menos 3 veces, pero no más de 8 veces. El equipo rechazó automáticamente aquellas maniobras que no cumplieran los criterios de aceptabilidad propuestos por la *American Thoracic Society* [62], y seleccionó 3 curvas que cumplen los criterios de repetibilidad, a partir de las cuales se midieron los parámetros que se evaluaron en este estudio: FEV₁, FVC, FEV₁/FVC, FEF₂₅, FEF₅₀, FEF₇₅, FEFmax. Estos parámetros espirométricos se expresaron tanto en valores absolutos como en porcentaje del predicho para sexo, edad y estatura [63].

Oximetría de pulso

La saturación periférica de oxígeno (SpO₂) se midió con un oxímetro de pulso (Life Scope 9, BSM-8302J, Nihon Kohden, Seúl Corea u Onyx II 9550, Nonin Plymouth, MN, EUZ) colocado en uno de los dedos de la mano del paciente.

Muestra de esputo

Se pidió al paciente que se enjuagara la boca con agua estéril y que depositará una expectoración en un contenedor de plástico. En aquellos pacientes cuya expectoración fue insuficiente se realizó inducción de esputo mediante inhalación con solución salina hipertónica (SSH). Esta inducción es una maniobra estandarizada y muy empleada en el contexto clínico y de investigación [64]. En el presente estudio usamos el método empleado por Sagel y col. en niños con FQ [65] y que consiste en la administración nebulizada de SSH al 3% en 6 sesiones de 2 minutos de duración cada una, con un minuto de intervalo. Después de cada periodo de nebulización de 2 minutos los niños expulsaron toda la saliva, después se hizo un enjuague bucal con agua estéril y finalmente tosieron hasta expectorar todo el esputo posible, mismo que fue colectado en un contenedor estéril. Al terminar las 6 sesiones de nebulización el esputo se transportó en hielo al laboratorio para que fueran procesados dentro de los primeros 20 minutos. Las muestras de esputo se congelaron inmediatamente y antes de 24 h se descongelaron para evaluarlas de acuerdo a recomendaciones de la *European Respiratory Society* [66]. Las muestras fueron pesadas y tratadas con ditiotritol (DTT, Sputolysin Reagent, Calbiochem Corp, San Diero, CA, EUA) al 0.1% en una proporción 4:1 (volumen:peso). Esta mezcla se agitó dos veces en equipo vórtex de alta velocidad durante 15-20 s a 37°C y luego se diluyó en amortiguador de fosfatos (4 veces el volumen del ditiotritol). Todo el líquido se filtró usando una malla de nylon de 40 µm (BD Falcon, NJ, EUA) y se centrifugó a 1800 rpm durante 10 min a 4°C. El sobrenadante se colectó cuidadosamente y se hicieron alícuotas que se almacenaron a -70°C hasta su análisis.

Muestra de sangre

La muestra de 2 mL de sangre se obtuvo de una vena periférica e inmediatamente se refrigeró. Antes de 24 h la muestra se centrifugó a 1800 rpm durante 10 min y alícuotas del suero se almacenaron a -70°C hasta su análisis.

Determinación de biomarcadores

La mieloperoxidasa (MPO) se midió en suero y sobrenadante de esputo mediante ELISA (Quantikine Human Immunoassay, R&D systems, Minneapolis, MN, EUA). Las concentraciones de citocinas en suero y sobrenadante de esputo se midieron mediante análisis multiplex con esferas magnéticas (Bio-Plex Pro™ Assay, Human Cytokine 17-Plex Panel, Bio-Rad Laboratories, EUA,

incluyendo IL-1 β , IL-2, IL-4, IL5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-17A, G-CSF, GM-CSF, IFN- γ , MCP-1, MIP-1 β , TNF- α).

El método consistió en que 50 μ L de muestras no diluidas o del estándar se añadieron a una placa de 96 pozos que tiene acopladas esferas magnéticas, seguida de incubación en oscuridad a temperatura ambiental con bamboleo a 300 rpm durante 30 minutos. Después de un lavado, se añadieron los anticuerpos y se incubaron durante 30 minutos. A continuación se añadió un conjugado de estreptavidina-ficoeritina como marcador fluorescente. Los datos de las reacciones de la placa de 96 pozos se obtuvieron usando un sistema Bio-Plex 200 y se analizaron mediante el software Bio-Plex Manager v6.0. El equipo generó curvas estándar optimizadas por analito y mostró los resultados como mediana de intensidad de fluorescencia (MFI) y concentración (pg/mL).

Medición de glicina sérica

La concentración de glicina sérica se determinó usando un kit comercial de ELISA por competencia (LDN Labor Diagnostika Nord, Norhorn, Germany) con sensibilidad de 3.3 μ l/mL.

Tamaño de la muestra

No existen estudios similares al respecto que nos permitieran calcular un tamaño de muestra. De acuerdo con la población de pacientes con FQ que acuden a la Asociación Mexicana de Fibrosis Quística y al INER, se esperaba reclutar al menos una muestra de 30 pacientes en total.

Análisis estadístico

Para resumir las variables cualitativas se utilizaron frecuencias absolutas y relativas, mientras que para las variables cuantitativas se utilizó el promedio y error estándar o, en caso de no tener una distribución normal, mediana y extremos; de esta forma, los datos basales se expresaron como promedio \pm error estándar, excepto para la concentración de biomarcadores, que fueron expresadas como mediana y extremos.

Todos los cambios observados a las semanas 4 y 8 de la rama experimental y placebo fueron expresados como porcentaje de sus respectivos valores basales, excepto para las determinaciones de glicina sérica que fueron expresados en sus valores reales (μ g/mL). Para las variables clínicas y espirométricas estos porcentajes siguieron una distribución normal (prueba de Kolmogorov-Smirnov), mientras que a los biomarcadores se les realizó una transformación logarítmica para que alcanzaran la distribución normal.

Se utilizó la prueba chi cuadrada para comparar categorías entre grupos de las variables nominales. Así que debido a la naturaleza cruzada del estudio, para las variables clínicas y

espirométricas se usó prueba t de Student pareada para la comparación de ambas ramas. Debido a que en algunas visitas fue imposible obtener muestras de sangre o de esputo, para comparar los hemogramas, los biomarcadores de suero y esputo y las concentraciones séricas de glicina, se empleó prueba t de Student no pareada. Algunas citocinas (IL-2, IL-5, IL-10, IL-17, GM-CSF) fueron no detectables en más del 60% de las muestras séricas, por lo que éstas se excluyeron del análisis. Finalmente, también se empleó prueba chi cuadrada, coeficiente de correlación de Pearson y regresiones de línea recta y curva.

Con el fin de evaluar la posible presencia de un efecto de arrastre o persistencia (*carryover*) de la glicina, se empleó el ANOVA para estudios cruzados 2x2 usando el comando pkcross en Stata v13.0, con la parametrización 3, que arroja resultados idénticos a los señalados por Toutenburg [67]. En este análisis se evaluaron los resultados al final del período intermedio de 4 semanas y del período final de 8 semanas.

La significancia estadística se fijó en $p \leq 0.05$ a una cola.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

Los sujetos participantes fueron invitados previamente y los padres o tutores legales completaron un consentimiento informado por escrito. El proyecto fue evaluado y aprobado por el Comité de Ética e Investigación del INER (aprobación **C39-11**) y del Instituto Mexicano del Seguro Social (aprobación **R-2012-785-028**) y fue registrado en la base de datos de ClinicalTrials (**NCT01417481**).

Toda la información obtenida de los expedientes clínicos se manejó de manera anónima, se identificó a los pacientes con sus iniciales y el número de expediente. El estudio fue conducido de acuerdo con las normas éticas, el reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud y con la declaración de Helsinki de 1964, en su sexta revisión de 2008 en Seúl, así como la buena práctica clínica.

RESULTADOS

El reclutamiento y seguimiento de los pacientes se detalla en la **Figura 2**. De los 15 pacientes originalmente reclutados, dos se eliminaron del estudio después de iniciar la fase de placebo (un niño debido a que su madre tuvo una cirugía programada y ya no pudo traerlo al hospital y una niña porque se hospitalizó durante 2 semanas por una exacerbación de la FQ). Por lo tanto, la población final estuvo integrada por 13 sujetos (ocho mujeres) de 6.2 a 23.6 años de edad (promedio \pm error estándar, 13 ± 1.5 años) cuyas características a su ingreso al estudio se describen en la **Tabla 2**.

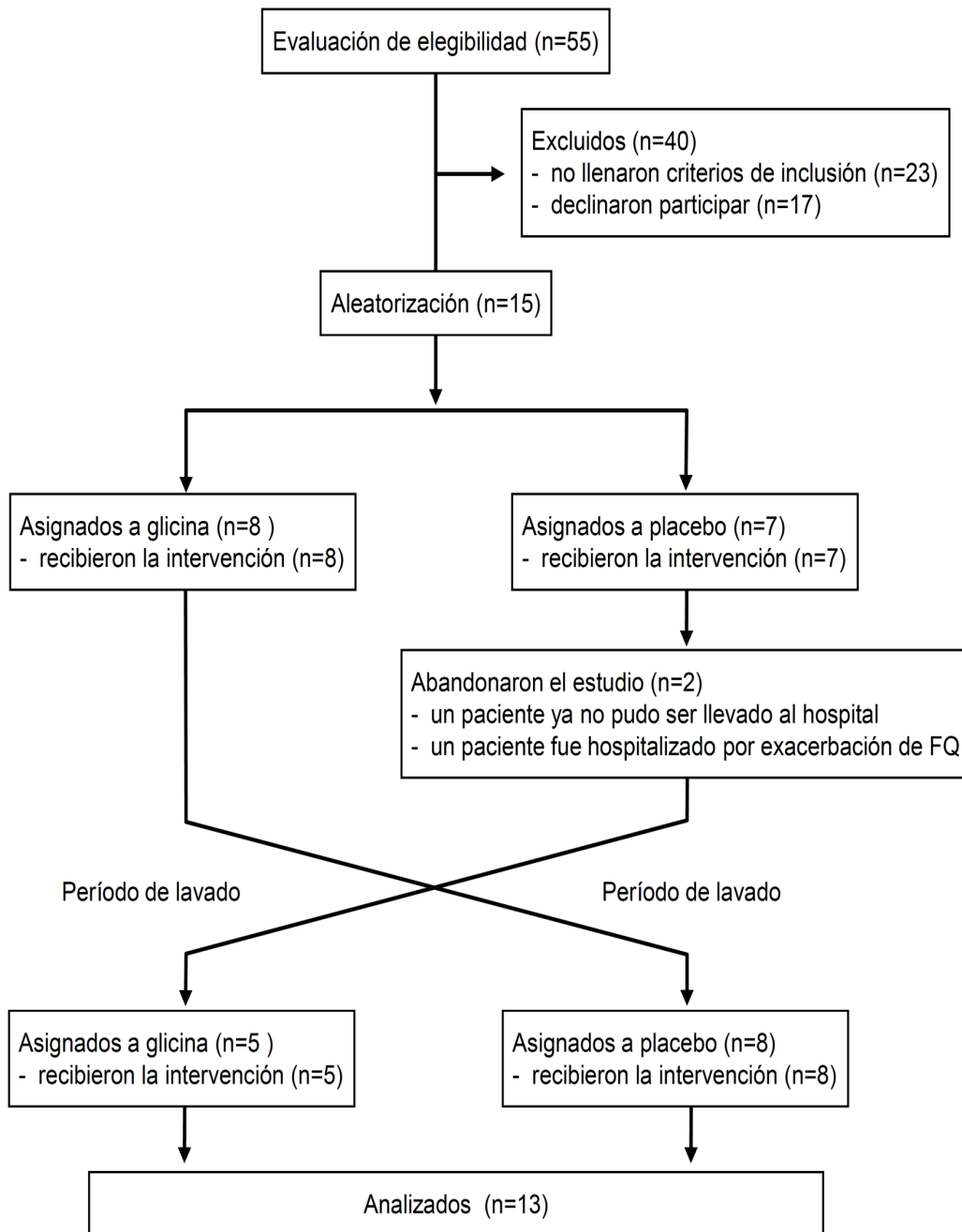


Figura 2. Diagrama de flujo que describe el proceso de selección y seguimiento de los participantes en el estudio. FQ=fibrosis quística.

Tabla 2. Características de los pacientes con FQ cuando ingresaron al estudio y cuando iniciaron cada una de las dos fases del estudio (placebo o glicina)

Variable	Valor al ingreso del estudio	Valor basal al inicio de		p*
		Placebo	Glicina	
Sexo (<i>hombre : mujer</i>)	5 : 8	---	---	---
Edad (<i>años</i>)	13.0 ± 1.5	---	---	---
Edad al diagnóstico de FQ (<i>años</i>)	3.4 ± 1.0	---	---	---
Peso (<i>kg</i>)	30.6 ± 2.5	31.2 ± 2.5	30.7 ± 2.4	0.44
Estatura (<i>cm</i>)	137.3 ± 4.4	137.8 ± 4.4	137.9 ± 4.3	0.49
IMC (<i>kg/m²</i>)	15.9 ± 0.4	16.1 ± 0.4	15.8 ± 0.4	0.32
Frecuencia cardiaca (<i>latidos/min</i>)	90.7 ± 3.8	87 ± 3.6	91.3 ± 3.7	0.21
Frecuencia respiratoria (<i>respiraciones/min</i>)	25.3 ± 1.3	22.8 ± 0.7	26.5 ± 1.4	0.015*
Temperatura (<i>°C</i>)	36.4 ± 0.1	36.4 ± 0.1	36.4 ± 0.1	0.38
Calificación del cuestionario †				
Tos	2.7 ± 0.3	2.6 ± 0.3	2.7 ± 0.2	0.42
Espujo	2.8 ± 0.4	2.6 ± 0.3	3.0 ± 0.3	0.20
Apetito	1.8 ± 0.2	1.5 ± 0.2	1.9 ± 0.2	0.072
Disnea	2.0 ± 0.3	1.6 ± 0.2	2.0 ± 0.3	0.18
Energía	1.8 ± 0.2	1.7 ± 0.1	1.8 ± 0.2	0.38
Calificación total	11.1 ± 1	10.1 ± 0.9	11.1 ± 0.9	0.21
SpO ₂ (%)	89.5 ± 2.1	92.8 ± 0.8	88.4 ± 2.1	0.032*
Hemograma				
Hemoglobina (<i>g/dL</i>)	15.2 ± 0.6	14.9 ± 0.4	15.4 ± 0.6	0.24
Leucocitos (<i>/mm³</i>)	9765 ± 1216	10145 ± 1382	10624 ± 1604	0.41
Neutrófilos (<i>/mm³</i>)	5991 ± 1107	6538 ± 1302	6940 ± 1435	0.42
Plaquetas (<i>/mm³</i>)	331800 ± 38504	335750 ± 49423	329222 ± 28626	0.45
Espirometría				
FVC (<i>% del predicho</i>)	79.1 ± 8.5	84.0 ± 7.0	79.5 ± 7.8	0.34
FEV ₁ (<i>% del predicho</i>)	65.3 ± 9.5	66.8 ± 8.8	58.7 ± 7.7	0.25
FEV ₁ /FVC (<i>% del predicho</i>)	80.4 ± 4.6	79.8 ± 4.3	74.1 ± 3.9	0.17
Glicina en suero (<i>µg/ml</i>)	121.9 ± 23.3	131.8 ± 16.4	153.7 ± 35.1	0.29
Biomarcadores en suero				
MPO (<i>ng/mL</i>)	706.7 (184.8 - 6292.5)	706.7 (169.0 - 2360.95)	567.5 (209.5 - 6292.5)	0.43
IL-1 (<i>pg/mL</i>)	0.36 (0.06 - 0.93)	0.37 (0.03 - 0.63)	0.56 (0.06 - 2.16)	0.28
IL-2 (<i>pg/mL</i>) ‡	---	---	---	---
IL-4 (<i>pg/mL</i>)	0.08 (0.01 - 0.37)	0.11 (0.01 - 0.22)	0.08 (0.01 - 0.37)	0.50

IL-5 (pg/mL) ‡	---	---	---	---
IL-6 (pg/mL)	2.47 (0.17 - 14.18)	1.87 (0.17 - 14.56)	2.47 (0.65 - 17.38)	0.20
IL-7 (pg/mL)	2.66 (0.10 - 10.41)	2.61 (0.10 - 6.32)	2.66 (1.19 - 10.41)	0.22
IL-8 (pg/mL)	4.79 (1.73 - 576.91)	4.79 (1.80 - 123.76)	5.54 (1.73 - 576.91)	0.50
IL-10 (pg/mL) ‡	---	---	---	---
IL-12 (pg/mL)	0.14 (0.13 - 4.13)	0.13 (0.13 - 3.03)	1.62 (0.13 - 14.3)	0.12
IL-13 (pg/mL)	2.17 (0.10 - 4.20)	2.12 (0.10 - 4.2)	2.31 (0.10 - 5.76)	0.20
IL-17 (pg/mL) ‡	---	---	---	---
G-CSF (pg/mL)	1.85 (0.32 - 9.73)	1.67 (0.09 - 3.73)	1.85 (0.93 - 9.73)	0.19
GM-CSF (pg/mL) ‡	---	---	---	---
IFN- γ (pg/mL)	4.91 (0.23 - 35.00)	4.91 (0.23 - 29.3)	8.71 (0.24 - 35.00)	0.31
MCP-1 (pg/mL)	19.06 (10.28 - 75.50)	19.06 (5.87 - 35.89)	19.73 (10.28 - 75.50)	0.17
MIP-1 β (pg/mL)	15.23 (4.99 - 73.01)	20.94 (1.62 - 58.42)	15.23 (3.24 - 73.01)	0.43
TNF- α (pg/mL)	0.07 (0.01 - 0.87)	0.01 (0.01 - 1.10)	0.18 (0.01 - 0.87)	0.052
Biomarcadores en esputo				
MPO (ng/mL)	52547 (3842 - 175762)	42130 (605 - 133486)	56511 (135 - 175762)	0.33
IL-1 (pg/mL)	1866 (152 - 15177)	2079 (130 - 6105)	1562 (232 - 15177)	0.44
IL-2 (pg/mL)	5.54 (0.38 - 9.82)	5.01 (0.38 - 10.69)	4.63 (2.24 - 9.82)	0.50
IL-4 (pg/mL)	1.91 (0.41 - 3.40)	2.05 (0.29 - 2.63)	1.89 (0.41 - 3.40)	0.38
IL-5 (pg/mL)	0.27 (0.01 - 0.68)	0.17 (0.01 - 0.48)	0.25 (0.01 - 0.68)	0.29
IL-6 (pg/mL)	7.2 (0.58 - 69.92)	5.24 (0.58 - 7.59)	6.97 (2.88 - 69.92)	0.06
IL-7 (pg/mL)	1.34 (0.21 - 4.66)	1.83 (0.21 - 2.76)	1.65 (0.55 - 4.66)	0.28
IL-8 (pg/mL)	3367 (765 - 18977)	1059 (741 - 4641)	1814 (765 - 18977)	0.10
IL-10 (pg/mL)	1.4 (0.64 - 3.06)	1.37 (0.64 - 1.52)	1.36 (0.64 - 3.06)	0.37
IL-12 (pg/mL)	4.71 (0.35 - 28.01)	4.92 (0.35 - 8.62)	4.92 (0.76 - 28.01)	0.50
IL-13 (pg/mL)	1.28 (0.09 - 5.95)	1.37 (0.09 - 2.96)	1.52 (0.35 - 5.95)	0.37
IL-17 (pg/mL)	20.29 (5.21 - 37.70)	18.01 (2.56 - 29.91)	19.81 (5.21 - 37.70)	0.30
G-CSF (pg/mL)	53.26 (9.41 - 199.92)	40.25 (9.41 - 84.70)	49.51 (26.80 - 199.92)	0.11
GM-CSF (pg/mL)	49.74 (42.82 - 67.32)	49.53 (34.11 - 59.50)	49.95 (42.82 - 67.73)	0.22
IFN- γ (pg/mL)	79.32 (8.48 - 163.48)	108.32 (15.19 - 146.90)	88.76 (8.48 - 163.48)	0.50
MCP-1 (pg/mL)	9.14 (6.17 - 16.89)	9.33 (2.78 - 25.61)	10.07 (6.17 - 16.89)	0.28
MIP-1 β (pg/mL)	14.7 (6.81 - 56.71)	8.95 (4.76 - 24.15)	14.58 (6.81 - 56.71)	0.11
TNF- α (pg/mL)	97.96 (5.64 - 544.67)	100.60 (2.50 - 188.63)	99.83 (5.64 - 544.67)	0.39

Los datos de sexo corresponden a frecuencias, los de variables clínicas (n=13) y hemogramas (n=8-9) a promedio \pm error estándar y los de biomarcadores en suero (n=9) o esputo (n=11) a mediana y extremos.

*Significancia estadística comparando Placebo vs Glicina (prueba t de Student o U de Mann-Whitney).

†Cada ítem se respondió en una escala tipo Liker de 5 opciones, pudiendo ir de 1 (mejor) a 5 (peor).

‡Eliminado del análisis debido a la gran cantidad (>60%) de muestras de suero con niveles por debajo del límite de detección.

Para significado de la abreviaturas consulte la página 2.

Al comienzo del estudio, todos los sujetos tenían tratamiento con enzimas pancreáticas y salbutamol nebulizado, 12 recibían vitamina E, 8 dornasa alfa inhalada, 4 azitromicina, 2 tobramicina inhalada, 2 solución salina hipertónica y 2 ibuprofeno. Todos los sujetos tenían acropaquias con osteoartropatía hipertrófica. Once (84.6%) pacientes habían tenido colonización de la vía aérea en una reciente evaluación: todos por *Pseudomonas aeruginosa*, excepto uno que tenía *Staphylococcus aureus*.

Las concentraciones séricas de glicina al inicio del estudio promediaron $121.9 \pm 23.3 \mu\text{g/mL}$ (Tabla 2). A las semanas 4 y 8, las concentraciones de glicina tendieron a ser mayores en el grupo que recibió este aminoácido, aunque la diferencia con el grupo control no alcanzó significancia estadística (173.2 ± 39.8 vs placebo $134.8 \pm 23.9 \mu\text{g/mL}$, $p=0.21$ y 217.7 ± 40.6 vs placebo 141.4 ± 35.6 , $p=0.09$, respectivamente; Figura 3).

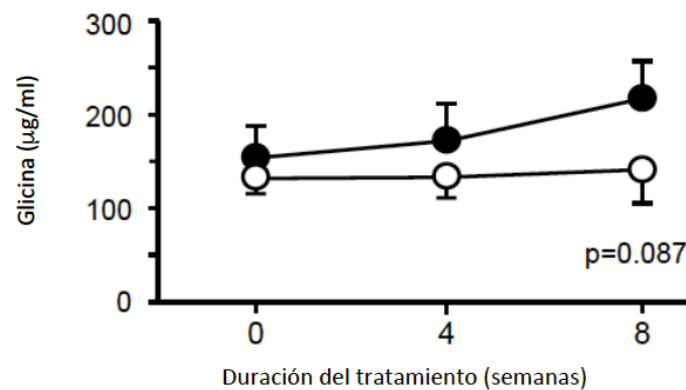


Figura 3. Cambios en la concentración sérica de glicina en sujetos con fibrosis quística durante la ingestión de glicina y placebo. Los símbolos corresponden a promedio \pm error estándar de 10 pacientes, los pacientes que recibieron 0.5g/kg/día de glicina (círculos negros) y placebo (círculos blancos).

Tanto el placebo como la glicina fueron bien tolerados y ninguno de los sujetos reportó efectos adversos potencialmente atribuibles a la glicina o al placebo.

Efecto de la glicina sobre el estado clínico y espirométrico

Los valores basales de las variables clínicas y espirométricas fueron casi similares en ambas ramas de tratamiento, excepto por una mayor frecuencia respiratoria y una menor SpO_2 al comienzo del período con glicina (Tabla 2).

Como puede observarse en la Tabla 3, después de 8 semanas de tratamiento ocurrió una mejoría sintomática con la administración de glicina, en comparación con el período placebo, alcanzando

Tabla 3. Cambios en los datos clínicos, espirométricos y biomarcadores en pacientes con fibrosis quística después de 4 y 8 semanas con placebo o glicina, expresados como porcentaje del respectivo valor basal.

Variable	Placebo		Glicina		Comparación entre ambos grupos *	
	Semana 4	Semana 8	Semana 4	Semana 8	Semana 4	Semana 8
Peso	102.7 ± 0.8	103.6 ± 1.0	100.5 ± 1.1	101.6 ± 1.1	0.08	0.13
Estatura	100.1 ± 0.1	100.5 ± 0.2	100.2 ± 0.1	100.5 ± 0.2	0.28	0.49
Frecuencia cardíaca	109.4 ± 3.3	98.1 ± 3.0	106.2 ± 5.2	103.5 ± 6.0	0.31	0.24
Frecuencia respiratoria	116.0 ± 4.7	109.0 ± 6.4	101.4 ± 4.9	94.8 ± 5.5	0.02*	0.06
Temperatura	100.2 ± 0.4	100.1 ± 0.5	100.4 ± 0.5	100.0 ± 0.3	0.37	0.45
Cuestionario †						
Tos	94.9 ± 11.5	89.1 ± 4.9	100.6 ± 9.8	81.1 ± 12.6	0.35	0.25
Espujo	100.0 ± 6.2	102.6 ± 10.1	96.4 ± 9.9	82.0 ± 7.0	0.36	0.03*
Apetito	98.7 ± 10.9	132.1 ± 25.4	94.9 ± 8.7	89.1 ± 11	0.39	0.08
Disnea	115.4 ± 14.4	103.8 ± 10.7	98.2 ± 9.9	75.6 ± 7.5	0.19	0.02*
Energía	100.0 ± 20.4	111.5 ± 16.2	114.1 ± 16.4	84.6 ± 7.4	0.33	0.11
Calificación total	94.5 ± 6.6	98.7 ± 8.4	97.8 ± 6.1	77.7 ± 5.2	0.39	0.02*
SpO ₂	96.8 ± 1.9	98.9 ± 1.4	101.1 ± 1.5	105.2 ± 2.5	0.04*	0.04*
Hemograma						
Hemoglobina	101.6 ± 2.2	98.6 ± 1.9	96.0 ± 4.4	98.5 ± 2.5	0.15	0.48
Leucocitos	116.0 ± 6.7	103.9 ± 8.2	101.1 ± 14.7	100.5 ± 14.6	0.20	0.42
Neutrófilos	121.7 ± 10.9	107.0 ± 12.7	107.9 ± 27.0	103.5 ± 22.3	0.33	0.45
Plaquetas	98.1 ± 7.7	94.9 ± 6.0	92.3 ± 8.4	92.5 ± 5.8	0.31	0.39
Espirometría						
FVC	93.2 ± 3.6	100.6 ± 9.8	96.3 ± 5.5	104.1 ± 4.1	0.33	0.38
FEV ₁	89.7 ± 3.6	91.4 ± 4.1	102.9 ± 5.4	109.7 ± 6.4	0.03*	0.006*
FEV ₁ /FVC	95.9 ± 0.9	94.9 ± 4.2	108.8 ± 5.7	105.2 ± 2.9	0.02*	0.02*
FEF ₂₅	82.6 ± 6.6	83.3 ± 7.7	116.5 ± 10.7	133.9 ± 13.6	0.003*	0.003*
FEF ₅₀	89.9 ± 3.0	93.1 ± 7.8	104.8 ± 8.0	115.5 ± 10.4	0.04*	0.04*
FEF ₇₅	119.4 ± 31.5	108.9 ± 15.8	93.3 ± 10.3	111.8 ± 11.7	0.20	0.44
FEFmax	86.6 ± 5.5	91.2 ± 4.6	114.5 ± 8.9	115.3 ± 6.1	0.01*	0.004*
Biomarcadores en suero						
MPO	81.1 ± 151.5	51.2 ± 193.9	154.3 ± 155.1	36.6 ± 165.4	0.15	0.35
IL-1	156.3 ± 111.9	92.2 ± 134.7	86.4 ± 132.9	68.6 ± 140.2	0.035*	0.26
IL-2 ‡	---	---	---	---	---	---
IL-4	199.1 ± 142.9	140.3 ± 166.8	70.2 ± 155.7	197.9 ± 138.7	0.042*	0.29
IL-5 ‡	---	---	---	---	---	---

IL-6	409.4 ± 135.9	168.1 ± 153.6	275.3 ± 151.2	102.0 ± 160.9	0.23	0.22
IL-7	142.6 ± 131.1	120.7 ± 125.5	90.9 ± 127.5	108.5 ± 115.2	0.12	0.35
IL-8	101.0 ± 137.0	58.0 ± 150.0	188.6 ± 160.2	71.4 ± 198.7	0.14	0.40
IL-10 ‡	---	---	---	---	---	---
IL-12	284.7 ± 184.6	182.1 ± 162.8	114.0 ± 187.0	209.1 ± 139.6	0.16	0.41
IL-13	206.8 ± 158.5	156.8 ± 153.1	55.8 ± 155.2	87.9 ± 147.4	0.028*	0.16
IL-17 ‡	---	---	---	---	---	---
G-CSF	262.9 ± 145.6	168.7 ± 157.9	188.8 ± 140.4	83.6 ± 143.0	0.26	0.12
GM-CSF ‡	---	---	---	---	---	---
IFN-γ	276.3 ± 160.4	231.1 ± 178.0	112.0 ± 131.3	212.4 ± 150.0	0.058	0.45
MCP-1	144.9 ± 124.3	111.5 ± 122.8	115.6 ± 125.3	82.5 ± 127.1	0.24	0.18
MIP-1β	157.8 ± 133.1	86.9 ± 124.8	143.6 ± 137.5	107.9 ± 138.9	0.41	0.30
TNF-α	460.6 ± 152.8	159.8 ± 173.1	162.0 ± 245.4	40.7 ± 188.1	0.15	0.061

Biomarcadores en esputo

MPO	99.5 ± 144.7	116.7 ± 148.8	229.1 ± 165.1	134.7 ± 166.1	0.11	0.41
IL-1	275.4 ± 155.2	97.7 ± 135.8	160.7 ± 142.1	80.9 ± 143.0	0.17	0.35
IL-2	155.8 ± 130.2	93.9 ± 133.1	93.0 ± 125.9	105.5 ± 121.0	0.077	0.38
IL-4	138.7 ± 119.4	112.8 ± 116.7	117.1 ± 119.9	96.4 ± 111.7	0.26	0.22
IL-5	107.9 ± 158.0	135.0 ± 153.6	108.1 ± 178.6	177.7 ± 153.3	0.50	0.33
IL-6	147.2 ± 125.9	149.3 ± 121.3	77.0 ± 125.6	100.0 ± 116.9	0.031*	0.068
IL-7	104.3 ± 124.9	137.6 ± 126.7	70.4 ± 118.4	115.1 ± 121.7	0.083	0.30
IL-8	97.1 ± 117.8	113.3 ± 124.0	136.8 ± 141.9	82.7 ± 170.3	0.21	0.28
IL-10	115.6 ± 114.2	101.7 ± 121.6	92.7 ± 122.7	113.5 ± 121.5	0.20	0.35
IL-12	118.3 ± 133.1	116.9 ± 133.3	82.4 ± 117.9	147.0 ± 139.4	0.13	0.30
IL-13	135.6 ± 140.7	124.6 ± 127.3	66.5 ± 128.6	145.5 ± 137.4	0.051	0.35
IL-17	137.3 ± 115.2	130.0 ± 120.9	121.0 ± 120.4	117.0 ± 109.9	0.30	0.32
G-CSF	135.7 ± 125.4	146.8 ± 126.5	89.5 ± 119.5	82.8 ± 120.0	0.079	0.040*
GM-CSF	116.9 ± 108.4	82.7 ± 111.4	85.1 ± 108.7	88.3 ± 108.1	0.007*	0.32
IFN-γ	139.6 ± 122.3	116.1 ± 118.3	125.8 ± 125.9	105.9 ± 116.2	0.37	0.35
MCP-1	96.5 ± 110.3	182.3 ± 159.4	118.4 ± 129.4	101.0 ± 117.3	0.25	0.14
MIP-1β	89.1 ± 113.6	125.2 ± 132.0	152.2 ± 129.3	93.3 ± 132.9	0.047*	0.24
TNF-α	133.0 ± 129.1	143.5 ± 137.8	180.3 ± 158.1	109.9 ± 128.6	0.29	0.27

Los datos corresponden al promedio aritmético (variables clínicas y espirométricas) o geométrico (biomarcadores en suero y esputo) ± error estándar del porcentaje con respecto a la basal.

* Significancia estadística obtenida con la prueba t de Student para datos no pareados (biomarcadores en suero y esputo, n=9-12 por grupo) o pareados (resto de variables, n=13) comparando Placebo vs Glicina.

† Cada ítem se respondió en una escala tipo Liker de 5 opciones, pudiendo ir de 1 (mejor) a 5 (peor).

‡Eliminado del análisis debido a la gran cantidad (>60%) de muestras de suero con niveles por debajo del límite de detección. Para significado de la abreviaturas consulte la página 2.

significancia estadística en el puntaje total del cuestionario ($p=0.02$), principalmente debido a una mejoría en las características del esputo ($p=0.03$) y en la percepción de la disnea ($p=0.02$) (**Figura 4A, 4B, 4C**). La frecuencia respiratoria tuvo una tendencia a ser menor durante la administración de glicina, en comparación con el período placebo, alcanzando significancia estadística en la semana 4 ($p=0.02$). Un hallazgo relevante fue que la oximetría de pulso mostró cifras más altas de SpO_2 en las semanas 4 y 8 de ingestión de glicina, con $p=0.04$ en ambas visitas, en comparación con el placebo (**Figura 4D**). Los hemogramas no tuvieron diferencias en ambas ramas de tratamiento.

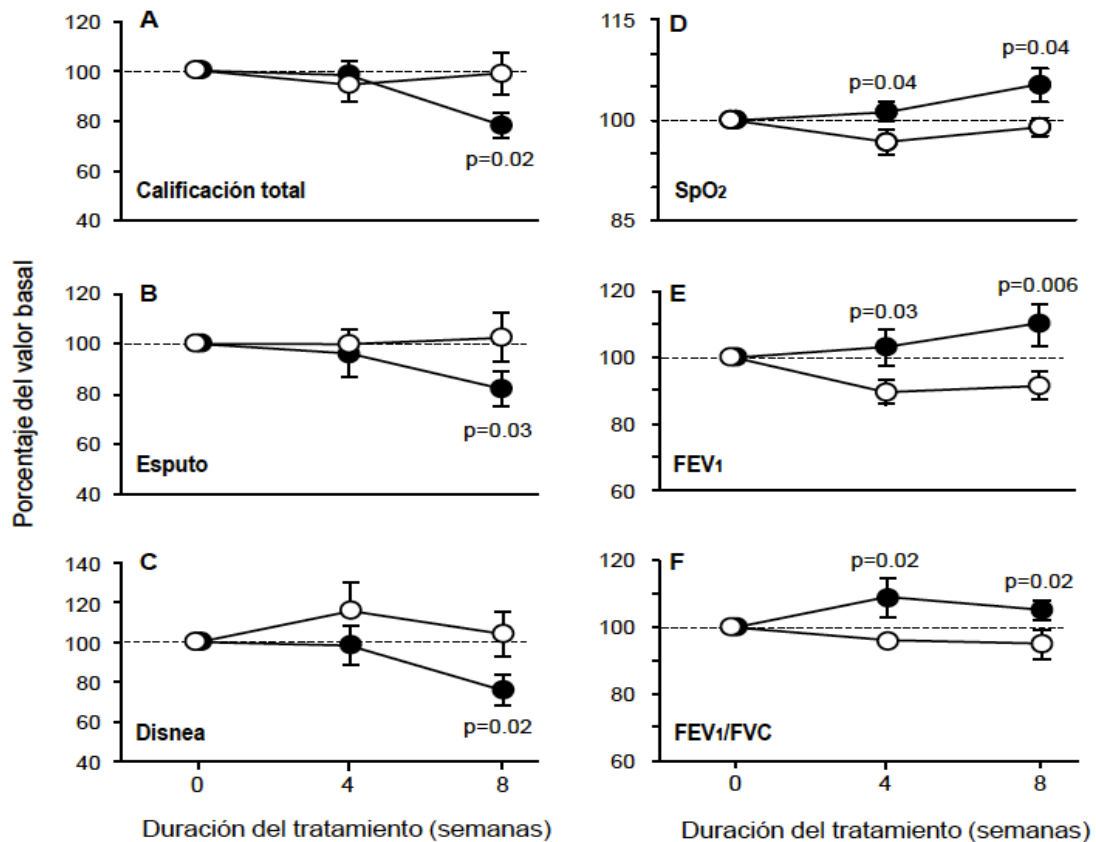


Figura 4. Cambios en el puntaje de síntomas, principales variables espirométricas y oximetría de pulso en sujetos con fibrosis quística durante la ingestión de glicina o placebo. Todos los datos están expresados como porcentaje de sus respectivos valores basales. Los símbolos corresponden a promedio \pm error estándar de 13 pacientes que recibieron 0.5g/kg/día de glicina (círculos negros) y placebo (círculos blancos) durante 8 semanas en orden aleatorio. La significancia estadística se evaluó a través de prueba t de Student pareada. El puntaje total de síntomas, las características del esputo y la percepción de disnea se evaluó en una escala tipo Liker que iba de 1 (mejor) a 5 (peor). SpO_2 =saturación periférica de oxígeno; FEV_1 =volumen espiratorio forzado en el primer segundo, FVC =capacidad vital forzada.

Estudios previos han demostrado que en sujetos con FQ la función respiratoria suele disminuir conforme avanza el tiempo (22-24) y, en concordancia con esto, encontramos que las variables espirométricas tendieron a disminuir durante el período con placebo (**Tabla 3 y Figura 4E y 4F**). En contraste, durante la administración de glicina la función pulmonar se mantuvo estable o incluso aumentó con respecto al valor inicial. Así la comparación entre placebo y glicina mostró diferencias estadísticamente significativas en la mayoría de las variables espirométricas, con valores de p de entre 0.04 y 0.003. En particular, el FEV₁, que es el parámetro espirométrico comúnmente empleado para evaluar la progresión de la enfermedad, incrementó hasta un 9.7% al final del periodo con glicina, mientras que disminuyó un 8.6% después del período con placebo.

Para ejemplificar los cambios crudos durante el estudio, la **Figura 5** ilustra las modificaciones en los puntajes de disnea, FEV₁ y SpO₂ tal como fueron ocurriendo durante todo el estudio.

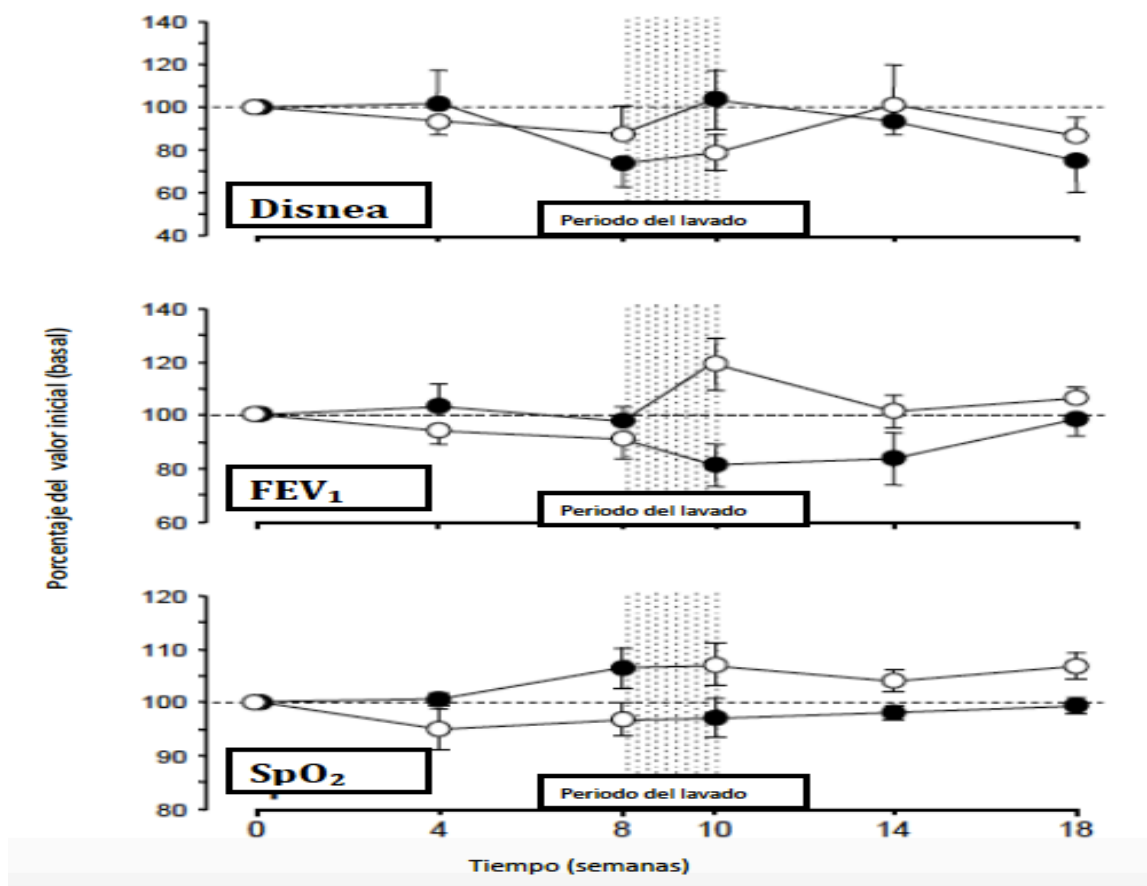


Figura 5. Cambios reales del puntaje de disnea, volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV₁) y saturación de oxígeno (SpO₂) en sujetos con fibrosis quística, tal como ocurrieron durante el estudio. De acuerdo a una selección aleatoria, los pacientes comenzaron el estudio (semanas 0-8) recibiendo ya sea placebo (círculos blancos, n=5) o glicina (círculos negros, n=8) y, después de un período de lavado (2 semanas), estos sujetos intercambiaron el tratamiento (semanas 10-18). Todos los datos están expresados como porcentaje del valor basal en la semana 0. Los símbolos corresponden a promedio ± error estándar.

Efecto de la glicina sobre los biomarcadores en suero y esputo

En algunas visitas no pudieron obtenerse muestras biológicas debido a que los padres de 3 niños no dieron su consentimiento para la extracción de sangre, una niña de 6 años de edad fue incapaz de expectorar y en algunas visitas los niños rechazaron la punción venosa (6 visitas) o no expectoraron (6 visitas).

Los valores basales de los biomarcadores en suero y esputo no mostraron diferencias en ambas ramas del tratamiento, aunque las concentraciones de TNF- α sérico y de IL-6 en esputo tendieron a ser mayores al inicio del período con glicina (**Tabla 2**).

En la **Tabla 3** se muestran las modificaciones de los biomarcadores al final de cada una de las ramas del tratamiento. El único biomarcador que alcanzó significancia estadística fue el G-CSF en esputo, que fue menor después de glicina que después de placebo ($p=0.040$). Los cambios en estas citocinas están ilustrados en la **Figura 6**. El resto de los biomarcadores no fue diferente entre ambas ramas de tratamiento.

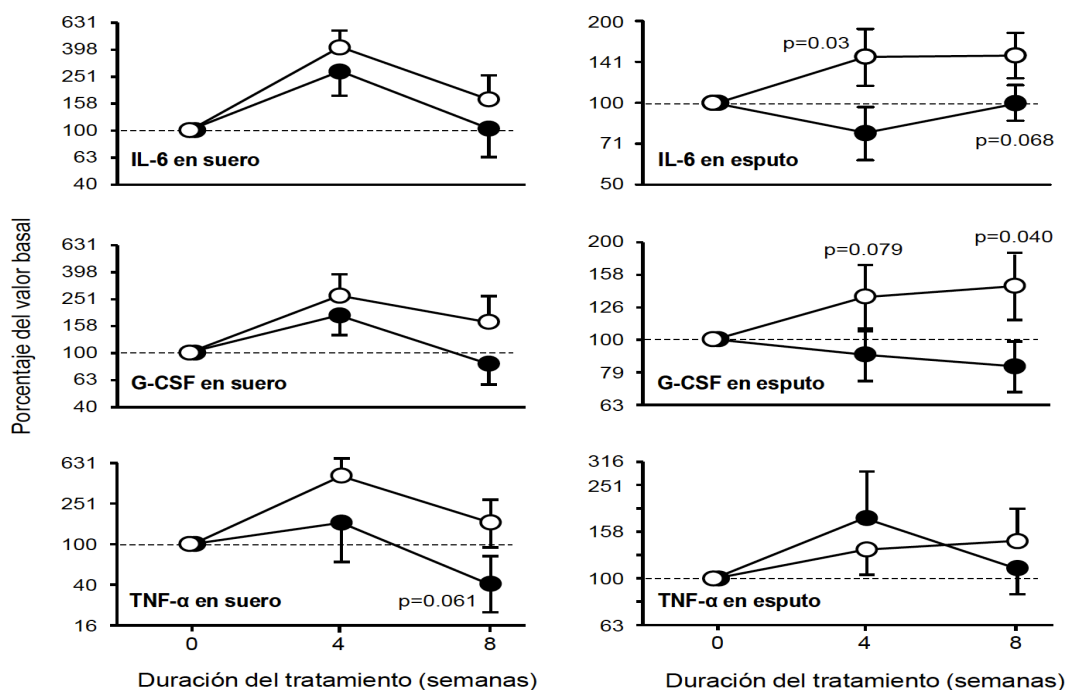


Figura 6. Los cambios de algunas citocinas en suero y esputo durante la ingestión de glicina o placebo. Todos los datos son expresados como porcentaje de sus respectivos valores basales. Los símbolos corresponden a promedio \pm error estándar de 9-12 sujetos que recibieron 0.5g/kg/día de glicina (círculos negros) y placebo (círculos blancos) durante 8 semanas en orden aleatorio. La significancia estadística se evaluó a través de prueba t de Student no pareada. G-CSF=factor estimulante de colonias de granulocitos; IL-6=interleucina 6; TNF- α =factor de necrosis tumoral alfa.

La **Figura 7** muestra los cambios crudos en la concentración de algunos biomarcadores seleccionados tal como ocurrieron durante el tiempo total del estudio en sujetos que primero tomaron glicina y después placebo.

Como se puede observar en la Tabla suplementaria S1, el análisis específico para detectar un efecto de arrastre o persistencia (*carryover*) de la glicina mostró que, efectivamente, durante el período con placebo algunas variables todavía manifestaban cambios atribuibles a la glicina. Este efecto estuvo presente a las 4 semanas solo en dos variables (IL-4 e IL-13 séricas), mientras que en el resto se manifestó hasta las 8 semanas (frecuencia cardiaca, calificación total del cuestionario, FVC, FEV₁ y MCP-1 sérica).

Correlación entre variables seleccionadas

El número total de leucocitos, neutrófilos y eosinófilos tuvo una correlación inversa con el porcentaje del FEV₁ predicho (**Figura 8**). De igual forma, los valores de SpO₂ fueron paulatinamente menores conforme declinaba el FEV₁ (% del predicho), pero esta disminución se acentuó súbitamente cuando el FEV₁ cayó por debajo de 40% del valor del predicho (**Figura 9**). Finalmente, la **Figura 10** ilustra cómo durante el estudio completo, los incrementos de TNF- α sérico, la IL-6 en esputo y el G-CSF en esputo correlacionaron con los cambios desfavorables en el puntaje total del cuestionario, el FEV₁ y/o niveles de SpO₂.

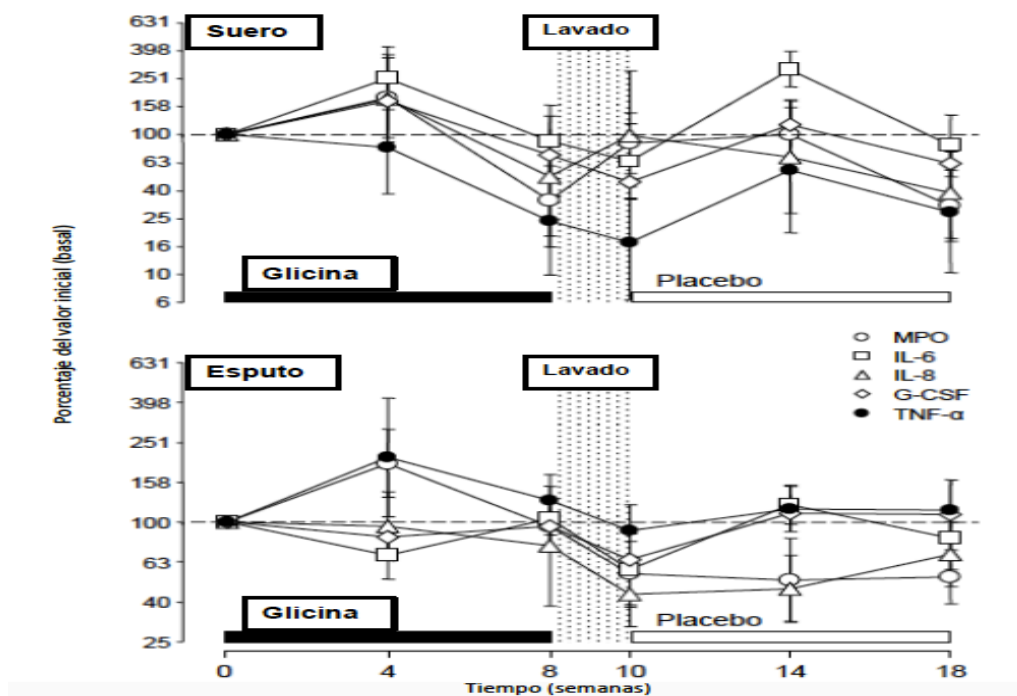


Figura 7. Cambios reales de algunas citocinas en suero y en esputo en los 8 sujetos con fibrosis quística que primero recibieron glicina (semanas 0-8) luego placebo (semanas 10-18). Todos los datos están expresados como porcentaje del valor basal en la semana 0. G-CSF=factor estimulante de colonias de granulocitos; IL-6=interleucina 6; IL-8=interleucina 8; MPO=mieloperoxidasa; TNF- α =factor de necrosis tumoral alfa.

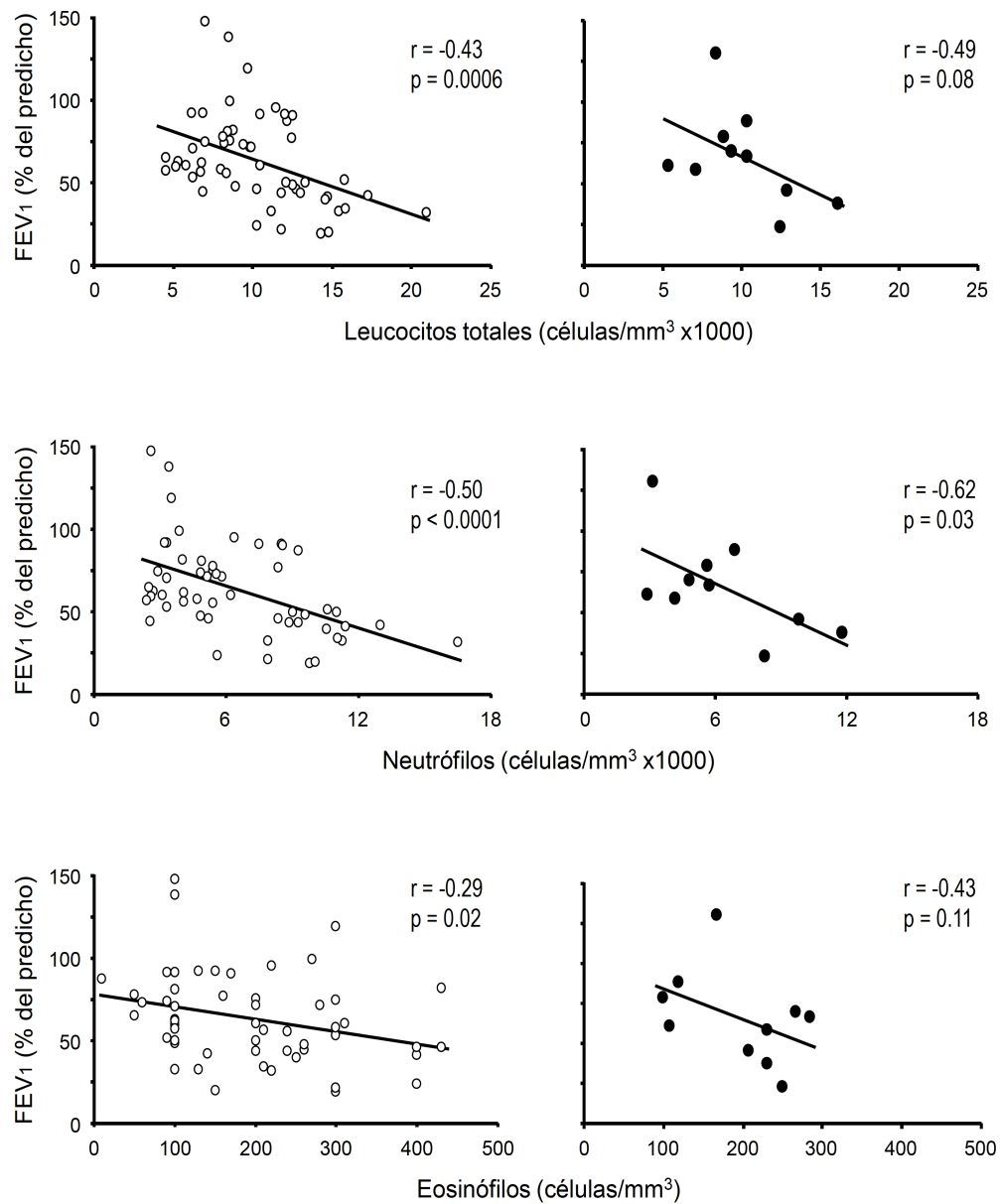


Figura 8. Correlaciones entre leucocitos de sangre periférica y el volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV₁) en sujetos con fibrosis quística. Las gráficas corresponden ya sea a todas las mediciones obtenidas en todas las visitas (círculos blancos) o al promedio de las seis visitas de cada paciente (círculos negros). En cada gráfica se muestra el coeficiente de correlación de Pearson (r) y su correspondiente significancia estadística (p).

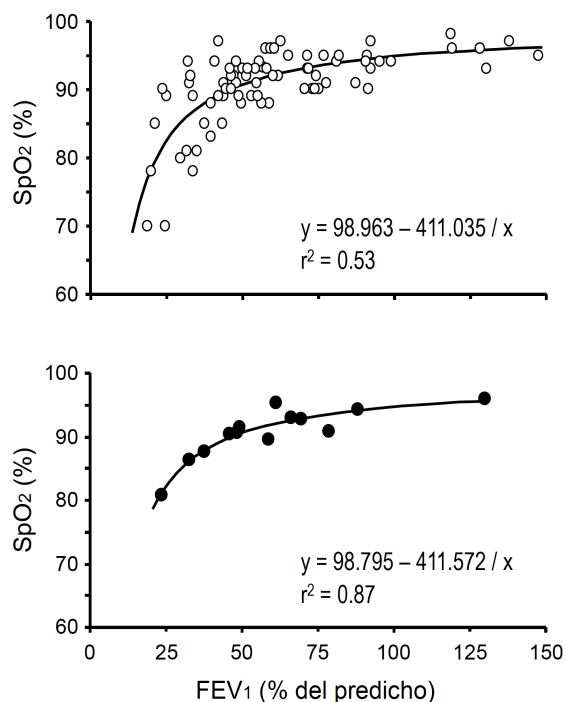


Figura 9. Correlación entre el volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV₁) y la saturación periférica de oxígeno (SpO₂) en sujetos con fibrosis quística. Las gráficas corresponden ya sea a todas las mediciones obtenidas en todas las visitas (círculos blancos) o al promedio de las seis visitas de cada paciente (círculos negros). En cada gráfica se muestra la fórmula de la función hiperbólica y su coeficiente de determinación (r^2).

DISCUSIÓN

En el presente estudio encontramos que la ingestión diaria de glicina por vía oral se asoció con una mejoría sintomática y una mejor función pulmonar en sujetos con FQ, en comparación con el placebo. Se ha estimado que los sujetos con FQ pierden alrededor del 2% del FEV₁ cada año, y este declive se ha considerado como un marcador importante de la progresión de la enfermedad y como factor predictivo de supervivencia y de estado de salud [28]. En este contexto, uno de los hallazgos más alentadores de nuestro estudio fue que la glicina fue capaz de evitar el declive del FEV₁. Así mismo, mientras que el FEV₁ disminuyó 9% al final de las 8 semanas con placebo, los mismos sujetos experimentaron una mejoría de casi el 10% después de la ingestión de glicina. De forma similar, casi todos los parámetros espirométricos tendieron a incrementar durante la administración de glicina. La mejoría del FEV₁ fue comparable o incluso ligeramente mayor a los cambios reportados durante el uso de tratamientos antiinflamatorios en sujetos con FQ, ya sea con corticosteroides [68, 69], dosis altas de ibuprofeno [70] o azitromicina [71]. Es razonable especular que el mecanismo por el cual la glicina promovió una mejor función pulmonar fue debido a su capacidad para inhibir la quimiotaxis y activación de células inflamatorias, en particular neutrófilos y macrófagos. Es esperable que un efecto así reduzca el engrosamiento de la pared bronquial y evite la liberación local de mediadores proinflamatorios tales como: TNF- α , IL-1 β e IL-6, que se sabe son promotores de la producción excesiva de moco [72]. En línea con esta posibilidad, encontramos que la ingestión de glicina se asoció con menores niveles de TNF- α en

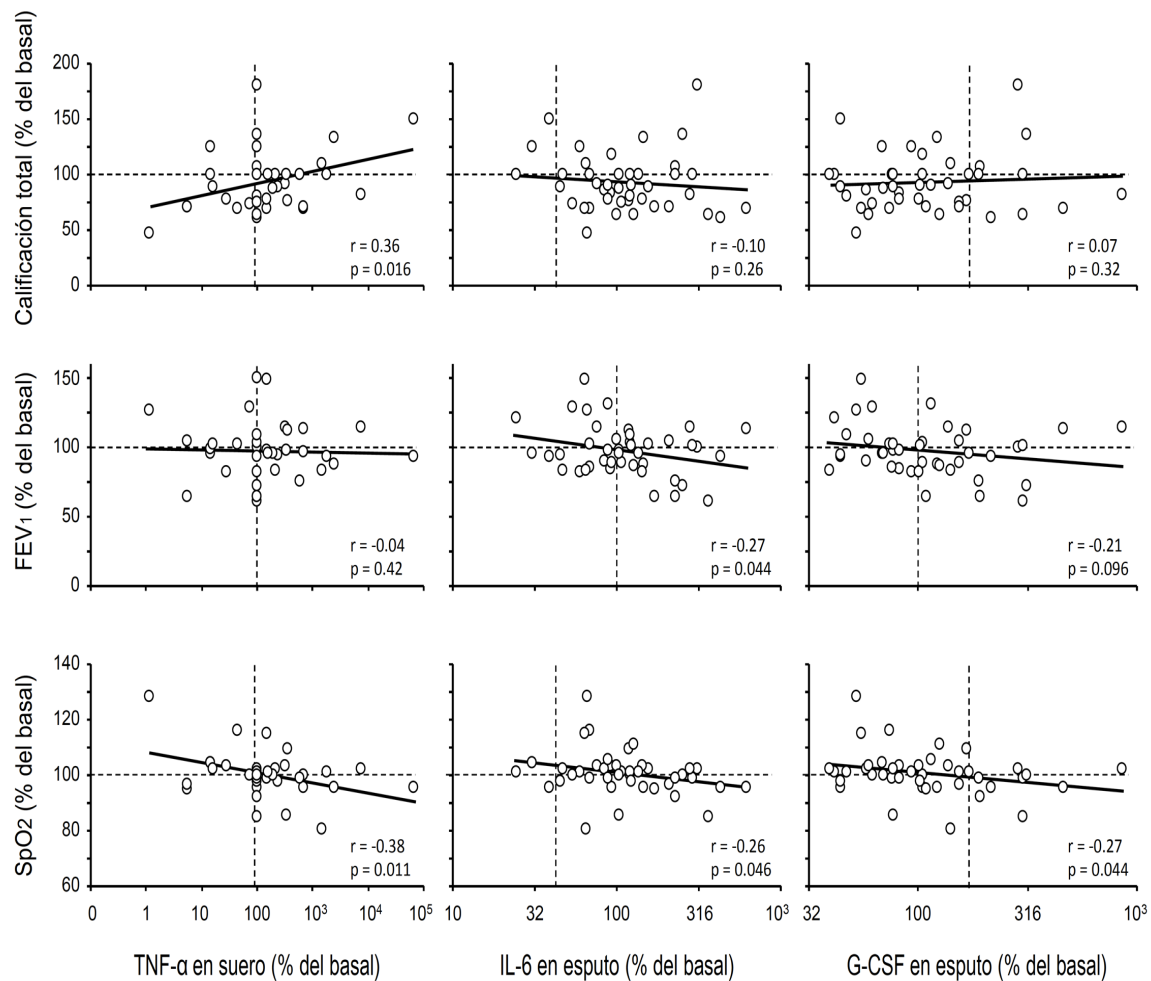


Figura 10. Relaciones entre algunas citocinas y el cuestionario de síntomas, el volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV₁) y la saturación de oxígeno (SpO₂) en sujetos con fibrosis quística. Los datos corresponden a todos los valores observados en las semanas 4 y 8, expresados como porcentaje de sus respectivos valores basales al inicio del período de glicina o placebo (semana 0).

suero y de IL-6 y G-CSF en esputo, y que los cambios en estas últimas citocinas tendieron a estar inversamente asociados con cambios en el FEV₁. Esta especulación se ve reforzada por el hallazgo de que el número de células inflamatorias (leucocitos totales, neutrófilos y eosinófilos) tenían una clara asociación inversa con la función pulmonar evaluada por el FEV₁. Por otro lado, en 2011 Yim et al. [73] demostraron por primera vez que el músculo liso de la vía aérea expresa GlyR, y que la activación de estos receptores causa relajación del músculo liso de las vías aéreas. Por lo tanto, además del posible efecto antiinflamatorio, la glicina podría haber mejorado la función pulmonar a través de una atenuación del tono broncomotor.

Encontramos que los niveles de SpO₂ disminuyeron progresivamente conforme la función pulmonar (FEV₁) disminuía, tal como ha sido descrito por otros autores. Por lo tanto, en nuestro estudio los mejores niveles de SpO₂ alcanzados durante la administración de glicina probablemente reflejan la mejoría de la función pulmonar. En este contexto, si la glicina disminuye la inflamación bronquial y no ocurre el taponamiento mucoso, podría esperarse una ventilación/perfusión (V'/Q') más apropiada. Una segunda posibilidad es que la glicina haya actuado en el otro elemento de la relación V'/Q', es decir, la microcirculación. Aunque no se ha demostrado la presencia de GlyR en el músculo liso vascular, se sabe que estos receptores están presentes en las células endoteliales y que su activación causa hiperpolarización [74] y mejoría de la función endotelial [75]. Puesto que el endotelio es capaz de modular la contracción del músculo arteriolar [76], es posible que la glicina mejore la perfusión sanguínea de zonas bien ventiladas, dando lugar a una mejor relación V'/Q'.

En contraste con los bien conocidos efectos adversos de los corticosteroides, el ibuprofeno y la azitromicina, fue muy notable que en nuestro estudio la glicina fue bien tolerada, ya que ningún paciente presentó síntomas atribuibles al tratamiento.

LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Las limitaciones potenciales de nuestro estudio incluyen el número relativamente bajo de sujetos, el relativamente corto tiempo de seguimiento en cada rama del tratamiento, y la presencia de un posible efecto residual de la glicina después del período de lavado. De forma interesante, el ANOVA para estudios cruzados 2x2 (Tabla suplementaria S1) mostró que en 6 de las 8 variables que tuvieron este efecto residual, éste último ocurrió hasta las 8 semanas, pero no se detectó a las 4 semanas. Lo anterior podría señalar que el efecto máximo de la glicina es de lenta aparición y desaparición, es decir, que tarda varias semanas en ser evidente y, de igual forma, se disipa después de varias semanas. Por lo tanto, consideramos que es necesario realizar estudios con mayor número de pacientes y mayor duración del tratamiento, quizá sin el cruzamiento, para corroborar nuestros resultados.

CONCLUSIONES

El presente estudio sugiere que la administración diaria de un suplemento oral de 0.5 g/kg de glicina durante 8 semanas mejora el estado clínico, espirométrico e inflamatorio en paciente con FQ, en comparación con placebo. Por lo tanto, la glicina podría constituir una herramienta terapéutica novedosa en pacientes con FQ.

CONFLICTOS DE INTERÉS

No hubo conflictos de interés por parte de los autores.

FINANCIAMIENTO

La presente investigación no tuvo financiamiento extrainstitucional.

REFERENCIAS

1. Middleton PG, M.M., Drevínek P, et al *Elexacaftor-Tezacaftor-Ivacaftor for Cystic Fibrosis with a Single Phe508del Allele*. NEJM, 2019. **381**(19): p. 1809-1819.
2. Zielenski, J., *Genotype and phenotype in cystic fibrosis*. Respiration, 2000. **67**(2): p. 117-33.
3. Riordan, J.R., et al., *Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA*. Science, 1989. **245**(4922): p. 1066-73.
4. Brown SD, W.R., Tobin P, *Keep them breathing: Cystic fibrosis pathophysiology, diagnosis, and treatment* JAAPA, 2017. **30**(5): p. 23-27.
5. *Worldwide survey of the delta F508 mutation--report from the cystic fibrosis genetic analysis consortium*. Am J Hum Genet, 1990. **47**(2): p. 354-9.
6. Gibson, R.L., J.L. Burns, and B.W. Ramsey, *Pathophysiology and management of pulmonary infections in cystic fibrosis*. Am J Respir Crit Care Med, 2003. **168**(8): p. 918-51.
7. Morral, N., et al., *The origin of the major cystic fibrosis mutation (delta F508) in European populations*. Nat Genet, 1994. **7**(2): p. 169-75.
8. López, C.E., S.C. Ridaura, and C.G. López, *Fibrosis quística en niños mexicanos. Reporte de 32 casos en 3,260 autopsias consecutivas*. Patología 1980. **18**(167-181).
9. Cystic_Fibrosis_Foundation, ed. *Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry: 2005 Annual data report to the center directors*. 2006, Cystic Fibrosis Foundation: Bethesda, MD.
10. Flume, P.A., et al., *Cystic fibrosis pulmonary guidelines: chronic medications for maintenance of lung health*. Am J Respir Crit Care Med, 2007. **176**(10): p. 957-69.
11. Lezana-Fernández, J.L., ed. *Fibrosis quística. Guías clínicas para el diagnóstico y tratamiento*. 2008, Intersistemas Editores: México DF.
12. Ratjen, F.A., *Cystic fibrosis: pathogenesis and future treatment strategies*. Respir Care, 2009. **54**(5): p. 595-605.
13. Koch, C., *Early infection and progression of cystic fibrosis lung disease*. Pediatr Pulmonol, 2002. **34**(3): p. 232-6.
14. Tabary, O., et al., *Adherence of airway neutrophils and inflammatory response are increased in CF airway epithelial cell-neutrophil interactions*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2006. **290**(3): p. L588-96.
15. Tirouvanziam, R., I. Khazaal, and B. Peault, *Primary inflammation in human cystic fibrosis small airways*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2002. **283**(2): p. L445-51.
16. Chmiel, J.F., M. Berger, and M.W. Konstan, *The role of inflammation in the pathophysiology of CF lung disease*. Clin Rev Allergy Immunol, 2002. **23**(1): p. 5-27.
17. Dinwiddie, R., *Pathogenesis of lung disease in cystic fibrosis*. Respiration, 2000. **67**(1): p. 3-8.
18. Smyth, R., *Diagnosis and management of cystic fibrosis*. Arch Dis Child Educ Pract Ed, 2005(90): p. ep1-ep6.
19. Konstan, M.W., et al., *Bronchoalveolar lavage findings in cystic fibrosis patients with stable, clinically mild lung disease suggest ongoing infection and inflammation*. Am J Respir Crit Care Med, 1994. **150**(2): p. 448-54.
20. Bonfield, T.L., et al., *Inflammatory cytokines in cystic fibrosis lungs*. Am J Respir Crit Care Med, 1995. **152**(6 Pt 1): p. 2111-8.
21. Durieu, I., et al., *Subepithelial fibrosis and degradation of the bronchial extracellular matrix in cystic fibrosis*. Am J Respir Crit Care Med, 1998. **158**(2): p. 580-8.

22. Nichols DP, C.J., *Inflammation and its genesis in cystic fibrosis*. . *Pediatr Pulmonol*, 2015. **50**: p. S39-S56.
23. Tirouvanziam, R., et al., *Inflammation and infection in naive human cystic fibrosis airway grafts*. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2000. **23**(2): p. 121-7.
24. Roesch E. A., N.D.P., *Inflammation in cystic fibrosis: An update* *Pediatr Pulmonol*, 2018. **53**(S3): p. S30-S50.
25. Sagel, S.D., J.F. Chmiel, and M.W. Konstan, *Sputum biomarkers of inflammation in cystic fibrosis lung disease*. *Proc Am Thorac Soc*, 2007. **4**(4): p. 406-17.
26. Ramsey, B.W. and T.F. Boat, *Outcome measures for clinical trials in cystic fibrosis. Summary of a Cystic Fibrosis Foundation consensus conference*. *J Pediatr*, 1994. **124**(2): p. 177-92.
27. Emerson, J., et al., *Pseudomonas aeruginosa and other predictors of mortality and morbidity in young children with cystic fibrosis*. *Pediatr Pulmonol*, 2002. **34**(2): p. 91-100.
28. Que, C., P. Cullinan, and D. Geddes, *Improving rate of decline of FEV1 in young adults with cystic fibrosis*. *Thorax*, 2006. **61**(2): p. 155-7.
29. Robinson, P., *Cystic fibrosis*. *Thorax*, 2001. **56**(3): p. 237-41.
30. Adis_International_Limited, *Inhaled tobramycin improves lung function and bacterial density associated with Pseudomonas aeruginosa infections in patients with cystic fibrosis*. *Drugs Ther Persp*, 2004. **20**: p. 1-4.
31. Chmiel, J.F. and M.W. Konstan, *Inflammation and anti-inflammatory therapies for cystic fibrosis*. *Clin Chest Med*, 2007. **28**(2): p. 331-46.
32. Prescott, W.A., Jr. and C.E. Johnson, *Antiinflammatory therapies for cystic fibrosis: past, present, and future*. *Pharmacotherapy*, 2005. **25**(4): p. 555-73.
33. Konstan, M.W., et al., *Effect of high-dose ibuprofen in patients with cystic fibrosis*. *N Engl J Med*, 1995. **332**(13): p. 848-54.
34. Wojtczak, H.A., et al., *Beclomethasone dipropionate reduced airway inflammation without adrenal suppression in young children with cystic fibrosis: a pilot study*. *Pediatr Pulmonol*, 2001. **32**(4): p. 293-302.
35. Oermann, C.M., M.M. Sockrider, and M.W. Konstan, *The use of anti-inflammatory medications in cystic fibrosis: trends and physician attitudes*. *Chest*, 1999. **115**(4): p. 1053-8.
36. Tramper-Stranders, G.A., et al., *Maintenance azithromycin treatment in pediatric patients with cystic fibrosis: long-term outcomes related to macrolide resistance and pulmonary function*. *Pediatr Infect Dis J*, 2007. **26**(1): p. 8-12.
37. Annoni S, B.A., Repossini E. , *Effectiveness of chest physiotherapy and pulmonary rehabilitation in patients with non-cystic fibrosis bronchiectasis: a narrative review* *Manaldi Archives for Chest Disease* 2020. **90**: p. 1107.
38. Mogayzel PJ Jr, N.E., Robinson KA, et al. , *Cystic fi brosis pulmonary guidelines. Chronic medications for maintenance of lung health*. . *Am J Respir Crit Care Med*, 2013. **187**(7): p. 680-689.
39. Jentsch, T.J., et al., *Molecular structure and physiological function of chloride channels*. *Physiol Rev*, 2002. **82**(2): p. 503-68.
40. Wheeler, M.D., et al., *Glycine: a new anti-inflammatory immunonutrient*. *Cell Mol Life Sci*, 1999. **56**(9-10): p. 843-56.
41. van-Berghenhegouwen J, B.S., Loonstra R, et al *Oral exposure to the free amino acid glycine inhibits the acute allergic response in a model of cow's milk allergy in mice*. *Nutrition Reserch* 2018. **58**: p. 95-105.

42. Ikejima, K., et al., *A diet containing glycine improves survival in endotoxin shock in the rat.* Am J Physiol, 1996. **271**(1 Pt 1): p. G97-103.
43. Wheeler, M.D., et al., *Dietary glycine blunts lung inflammatory cell influx following acute endotoxin.* Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2000. **279**(2): p. L390-8.
44. Alarcon-Aguilar, F.J., et al., *Glycine regulates the production of pro-inflammatory cytokines in lean and monosodium glutamate-obese mice.* Eur J Pharmacol, 2008. **599**(1-3): p. 152-8.
45. Almanza-Perez, J.C., et al., *Glycine regulates inflammatory markers modifying the energetic balance through PPAR and UCP-2.* Biomed Pharmacother, 2010. **64**(8): p. 534-40.
46. Wheeler, M.D. and R.G. Thurman, *Production of superoxide and TNF-alpha from alveolar macrophages is blunted by glycine.* Am J Physiol, 1999. **277**(5 Pt 1): p. L952-9.
47. Garcia-Macedo, R., et al., *Glycine increases mRNA adiponectin and diminishes pro-inflammatory adipokines expression in 3T3-L1 cells.* Eur J Pharmacol, 2008. **587**(1-3): p. 317-21.
48. Iijima, S., et al., *Beneficial effect of enteral glycine in intestinal ischemia/reperfusion injury.* J Gastrointest Surg, 1997. **1**(1): p. 61-7; discussion 67-8.
49. Omasa, M., et al., *Glycine ameliorates lung reperfusion injury after cold preservation in an ex vivo rat lung model.* Transplantation, 2003. **75**(5): p. 591-8.
50. Jaeschke, H. and C.W. Smith, *Mechanisms of neutrophil-induced parenchymal cell injury.* J Leukoc Biol, 1997. **61**(6): p. 647-53.
51. Sá OMS, L.N., Alves MTS, *Effects of glycine on Collagen, PDGF, and EGF expression in Model of Oral Mucositis.* Nutrients 2018. **10**(10): p. 1485.
52. Nesbit, R.M. and S.I. Glickman, *The use of glycine solution as irrigating medium during transurethral resection.* J Urol, 1948. **59**: p. 121-126.
53. *New and nonofficial remedies.* J Am Med Assoc, 1935. **104**: p. 1241.
54. Carvajal, G., et al., *Inhibición de la glicosilación no enzimática de la hemoglobina en la diabetes mellitus.* Rev Inst Nal Enf Resp, 1995. **8**: p. 185-188.
55. Khan, M., et al., *Oral administration of glycine in the prevention of restenosis after coronary angioplasty. A double blind placebo controlled randomized feasibility trial evaluating safety and efficacy of glycine in the prevention of restenosis after angioplasty.* Acute Card Care, 2006. **8**(1): p. 58-64.
56. Heresco-Levy, U., et al., *Double-blind, placebo-controlled, crossover trial of glycine adjuvant therapy for treatment-resistant schizophrenia.* Br J Psychiatry, 1996. **169**(5): p. 610-7.
57. Heresco-Levy, U., et al., *Efficacy of high-dose glycine in the treatment of enduring negative symptoms of schizophrenia.* Arch Gen Psychiatry, 1999. **56**(1): p. 29-36.
58. Fries, M.H., et al., *Isovaleric acidemia: response to a leucine load after three weeks of supplementation with glycine, L-carnitine, and combined glycine-carnitine therapy.* J Pediatr, 1996. **129**(3): p. 449-52.
59. File, S.E., E. Fluck, and C. Fernandes, *Beneficial effects of glycine (bioglycin) on memory and attention in young and middle-aged adults.* J Clin Psychopharmacol, 1999. **19**(6): p. 506-12.
60. Hahn, R.G., *Dose-dependent half-life of glycine.* Urol Res, 1993. **21**(4): p. 289-91.
61. Rosenstein, B.J. and G.R. Cutting, *The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement. Cystic Fibrosis Foundation Consensus Panel.* J Pediatr, 1998. **132**(4): p. 589-95.
62. *Standardization of Spirometry, 1994 Update. American Thoracic Society.* Am J Respir Crit Care Med, 1995. **152**(3): p. 1107-36.
63. Perez-Padilla, R., et al., *Spirometric function in children of Mexico City compared to Mexican-American children.* Pediatr Pulmonol, 2003. **35**(3): p. 177-83.

64. Djukanovic, R., et al., *Standardised methodology of sputum induction and processing*. Eur Respir J Suppl, 2002. **37**: p. 1s-2s.
65. Sagel, S.D., et al., *Airway inflammation in children with cystic fibrosis and healthy children assessed by sputum induction*. Am J Respir Crit Care Med, 2001. **164**(8 Pt 1): p. 1425-31.
66. Efthimiadis, A., et al., *Methods of sputum processing for cell counts, immunocytochemistry and in situ hybridisation*. Eur Respir J Suppl, 2002. **37**: p. 19s-23s.
67. Toutenburg, H., ed. *Experimental design and model choice. The planning and analysis of experiments with continuous or categorical response*. 1995, Springer-Verlag: Berlin.
68. Eigen H, R.B., FitzSimmons S, Schidlow DV, *A multicenter study of alternate-day prednisone therapy in patients with cystic fibrosis*. Cystic Fibrosis Foundation Prednisone Trial Group. J Pediatr, 1995. **126**: p. 515-23.
69. Grealley P, H.M., Vergani D, Price JF, *Interleukin-1 α , soluble interleukin-2 receptor, and IgG concentrations in cystic fibrosis treated with prednisolone*. Arch Dis Child, 1994. **71**: p. 35-9.
70. Konstan MW, S.M., Xue W, Davis PB, *Clinical use of ibuprofen is associated with slower FEV1 decline in children with cystic fibrosis*. Am J Respir Crit Care Med, 2007. **176**: p. 1084-9.
71. Florescu DF, M.P., Kalil AC, *Effects of prolonged use of azithromycin in patients with cystic fibrosis: a meta-analysis*. Pulm Pharmacol Ther, 2009. **22**: p. 467-72.
72. Voynow JA, R.B., *Mucins, mucus, and sputum*. Chest, 2009. **135**: p. 505-12.
73. Yim PD, G.G., Xu D, Zhang Y, Emala CW, *Novel expression of a functional glycine receptor chloride channel that attenuates contraction in airway smooth muscle*. FASEB J, 2011. **25**: p. 1706-17.
74. Yamashina S, K.A., Wheeler MD, Rusyn I, Rusyn EV, Cox AD, et al, *Endothelial cells contain a glycine-gated chloride channel*. Nutr Cancer, 2001. **40**: p. 197-204.
75. Gomez-Zamudio JH, G.-M.R., Lazaro-Suarez M, Ibarra-Barajas M, Kumate J, Cruz M. , *Vascular endothelial function is improved by oral glycine treatment in aged rats*. Can J Physiol Pharmacol, 2015. **93**: p. 465-73.
76. KA, D., *Coordination of vasomotor responses by the endothelium*. Circ J, 2010. **74**: p. 226-32.

Tabla suplementaria S1. Resultados (valor de p) del ANOVA para estudios cruzados 2x2

Variable	Efecto por acarreo (<i>carryover</i>)		Efecto por tratamiento		Efecto por período	
	Semana 4	Semana 8	Semana 4	Semana 8	Semana 4	Semana 8
Peso	0.304	0.386	0.047	0.025	0.449	0.279
Estatura	0.224	0.425	0.317	0.144	0.300	0.194
Frecuencia cardiaca	0.244	0.037	0.372	0.179	0.204	0.279
Frecuencia respiratoria	0.153	0.328	0.004	0.021	0.196	0.379
Temperatura	0.401	0.068	0.440	0.389	0.316	0.243
Cuestionario †						
Tos	0.270	0.166	0.313	0.249	0.399	0.371
Esputo	0.281	0.277	0.313	0.060	0.182	0.186
Apetito	0.435	0.146	0.458	0.031	0.175	0.255
Disnea	0.175	0.156	0.133	0.030	0.133	0.174
Energía	0.357	0.096	0.226	0.132	0.104	0.258
Calificación total	0.326	0.005	0.191	0.047	0.201	0.066
SpO ₂	0.322	0.055	0.085	0.068	0.305	0.480
Hemograma						
Hemoglobina	0.420	0.226	0.044	0.251	0.186	0.468
Leucocitos	0.171	0.421	0.312	0.461	0.176	0.308
Neutrófilos	0.471	0.119	0.355	0.409	0.052	0.126
Plaquetas	0.148	0.180	0.411	0.345	0.397	0.089
Espirometría						
FVC	0.331	0.040	0.408	0.355	0.196	0.385
FEV ₁	0.317	0.008	0.053	0.019	0.281	0.068
FEV ₁ /FVC	0.275	0.323	0.013	0.006	0.191	0.006
FEF ₂₅	0.493	0.363	0.005	0.005	0.060	0.074
FEF ₅₀	0.266	0.281	0.026	0.042	0.362	0.030
FEF ₇₅	0.093	0.237	0.203	0.370	0.183	0.092
FEFmax	0.136	0.480	0.009	0.042	0.427	0.391
Biomarcadores en suero						
MPO	0.105	0.184	0.172	0.340	0.352	0.361
IL-1	0.348	0.150	0.053	0.086	0.415	0.052
IL-2 ‡	0.415	0.297	0.462	0.324	0.075	0.276
IL-4	0.038	0.212	0.004	0.284	0.119	0.454
IL-5 ‡	0.070	0.336	0.371	0.205	0.289	0.491
IL-6	0.481	0.212	0.336	0.225	0.339	0.400
IL-7	0.198	0.403	0.015	0.211	0.071	0.130
IL-8	0.187	0.055	0.209	0.433	0.195	0.468

IL-10 ‡	0.218	0.040	0.432	0.053	0.122	0.414
IL-12	0.054	0.087	0.128	0.456	0.192	0.168
IL-13	0.023	0.097	0.033	0.176	0.262	0.320
IL-17 ‡	0.085	0.085	0.085	0.085	0.085	0.085
G-CSF	0.368	0.151	0.334	0.176	0.441	0.455
GM-CSF ‡	---	0.085	---	0.085	---	0.085
IFN- γ	0.167	0.194	0.063	0.465	0.284	0.434
MCP-1	0.281	0.015	0.369	0.262	0.311	0.498
MIP-1 β	0.281	0.056	0.491	0.382	0.227	0.331
TNF- α	0.085	0.157	0.220	0.172	0.305	0.235
Biomarcadores en esputo						
MPO	0.370	0.154	0.031	0.160	0.377	0.410
IL-1	0.267	0.279	0.246	0.117	0.380	0.053
IL-2	0.315	0.398	0.236	0.139	0.289	0.058
IL-4	0.283	0.238	0.245	0.070	0.444	0.028
IL-5	0.282	0.375	0.334	0.393	0.484	0.199
IL-6	0.405	0.307	0.156	0.051	0.239	0.146
IL-7	0.233	0.059	0.226	0.313	0.091	0.350
IL-8	0.493	0.263	0.056	0.418	0.005	0.145
IL-10	0.200	0.356	0.417	0.483	0.106	0.352
IL-12	0.214	0.436	0.266	0.355	0.332	0.227
IL-13	0.328	0.271	0.243	0.231	0.288	0.086
IL-17	0.222	0.211	0.232	0.212	0.363	0.100
G-CSF	0.413	0.054	0.246	0.034	0.386	0.273
GM-CSF	0.432	0.108	0.056	0.351	0.114	0.277
IFN- γ	0.292	0.266	0.260	0.128	0.434	0.041
MCP-1	0.249	0.176	0.379	0.287	0.236	0.379
MIP-1 β	0.089	0.154	0.141	0.426	0.317	0.207
TNF- α	0.367	0.235	0.348	0.116	0.323	0.032

Los datos corresponden al valor de la p obtenido para cada efecto y variable.

Todas las variables ingresaron al ANOVA como porcentaje de su respectivo valor basal.

‡Eliminado del análisis debido a la gran cantidad (>60%) de muestras de suero con niveles por debajo del límite de detección.

Para significado de la abreviaturas consulte la página 2.

Anexo 1. Cuestionario de síntomas



INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS

Evaluación de la capacidad de un suplemento oral de glicina para disminuir la inflamación bronquial en niños con fibrosis quística

CUESTIONARIO DE SÍNTOMAS

Investigadores principales:

Dr. Mario Humberto Vargas Becerra, Dra Rosangela Del Razo Rodríguez.

Instrucciones: Este cuestionario está hecho para ayudarnos a saber mucho más sobre tus problemas respiratorios y cómo te afectan a la vida. Usaremos el cuestionario, no tanto para conocer los problemas que los médicos y las enfermeras piensan que tu tienes, sino para saber qué aspectos de tu enfermedad son los que te causan más problemas. Por favor, lee atentamente las instrucciones y pregúntame lo que no entiendas. No te entretengas demasiado en decidir las respuestas. Contesta cada una señalando con una cruz el cuadro correspondiente a la respuesta que eliges (así X). Toda la información será confidencial.

A continuación, algunas preguntas para saber cuántos problemas respiratorios has tenido durante el último mes. Por favor, cada pregunta marca la respuesta que corresponda

	Puntos				
	1	2	3	4	5
Durante el último mes has presentado....					
Tos	No	Con ejercicio o terapia	Frecuente durante el día	Día/noche	Día/noche Dolor de pecho
Espujo (flema)	No	Ocasional, con la terapia	Poca cantidad, ligero	Aumentado, oscuro, espeso	Copioso, muy abundante, rasgos de sangre
Apetito	Excelente	Bueno	Usual	Disminuido	Pobre
Disnea (falta de aire)	No	Con ejercicio	Escaleras	Actividad rutinaria	En reposo
Energía	Excelente	Buena	Pobre	Pobre	Letargo

Anexo 2. Criterios de exacerbación

Se considera exacerbación cuando cumple al menos tres de los siguientes:

- Incremento de la tos.
- Aumento en la producción de esputo y/o cambios en la apariencia del mismo.
- Fiebre (inconstante).
- Pérdida de peso mayor de 5% asociada a anorexia o disminución en la ingesta calórica o falla nutricional.
- Polipnea o incremento en el trabajo respiratorio.
- Postración.
- Nuevos hallazgos en la exploración del tórax.
- Disminución en la tolerancia al ejercicio.
- Descenso del volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV₁) igual o mayor de 5% con respecto al valor previo.
- Disminución en la saturación de oxígeno mayor de 10%.
- Nuevos hallazgos en la radiografía de tórax.

La exacerbación puede ser clasificada a criterio médico como leve, moderada o grave en base a:

Leve: con tres criterios y disminución de 5% en el FEV₁.

Moderada: cuatro criterios o más con disminución de 5 a 10% en el FEV₁.

Grave: cuatro criterios o más con disminución mayor de 10% en el FEV₁.

**INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS****CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN****Evaluación de la capacidad de un suplemento oral de glicina para disminuir la inflamación bronquial en niños con fibrosis quística**

México DF, a _____ de _____ de 20_____.

Por medio de la presente acepto que mi hijo(a) _____
_____ participe en este proyecto de investigación. Se me ha explicado que el objetivo de este estudio conocer la eficacia de un suplemento dietético llamado glicina para disminuir la inflamación de las vías aéreas en alrededor de 30 niños con fibrosis quística. Se me explicó que la glicina es un polvo o granulado parecido al azúcar y que tiene un saber ligeramente dulce. Estoy enterado que la participación total de mi hijo durará aproximadamente cuatro meses, y que la mitad de ese tiempo (8 semanas) deberá tomar glicina disuelta en cualquier líquido una vez al día. La otra mitad del tiempo (otras 8 semanas) tomará una sustancia que no tiene ningún efecto medicamentoso y que también será un polvo o granulado de sabor dulce. Entiendo que los investigadores decidirán cuál sustancia recibirá mi hijo(a) primero y cuál después, y que para que el estudio tenga más validez yo no lo sabré. Se me explicó que durante el estudio tendré que traer a mi hijo(a) a este hospital cada 4 semanas, y que en cada visita ocurrirá lo siguiente: 1) Se me preguntará cómo ha estado mi hijo (cuestionario de síntomas). 2) Se le pedirá a mi hijo(a) que sople varias veces sobre un aparato llamado “espirómetro” y que mide la función de los pulmones. 3) Se le tomarán 2 ml de sangre y una muestra de expectoración (flema o gargajo) para determinar la cantidad de glóbulos blancos llamados neutrófilos y medir otras sustancias que indican la presencia de inflamación. 4) Se me dará una nueva dotación de glicina o placebo que me durará hasta la siguiente visita. Se me explicó que todos los estudios relacionados con este protocolo no tendrán ningún costo, pero que tampoco recibiré pago alguno porque mi hijo(a) participe y que el beneficio esperado es que la glicina disminuya la inflamación bronquial. Se me ha asegurado que el suplemento dietético no causa efectos colaterales a la dosis que se administrará y que por lo tanto no hay riesgos para la salud.

El investigador principal se ha comprometido a responder cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que le plantee acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo, los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación. Entiendo que la participación de mi hijo(a) es totalmente voluntaria, que conservo el derecho de retirarlo del estudio en cualquier momento, incluso aunque ya haya firmado esta carta, y que esto no afectará la atención médica que recibo del hospital. El investigador principal me aseguró que no se identificará a mi hijo por su nombre en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y que los datos relacionados con su privacidad serán manejados en forma confidencial.

Si requiere mayor información sobre el estudio o avisar de cualquier incidente que ocurra durante el desarrollo del mismo, puede comunicarse directamente con: Dra. Rosangela Del Razo Rodríguez a los teléfonos: 044 (55) 27 51 22 29 ó vía Internet: rosangelarr@yahoo.com. Si necesita información sobre sus derechos como participante de este estudio, puede consultar al Comité de Ciencia y Bioética en Investigación de este instituto al teléfono 54871700 extensión 5110 y 5254. Tu participación es importante!

Padre, madre o tutor

Investigadores principales

Dr Mario Humberto Vargas Becerra

Dra Rosangela Del Razo Rodríguez

Testigo

Relación:

Dirección:

Testigo

Relación:

Dirección:

Anexo 4. Asentimiento informado del paciente



INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS

“Dr. Ismael Cosío Villegas”

CARTA DE ASENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

Evaluación de la capacidad de un suplemento oral de glicina para disminuir la inflamación bronquial en niños con fibrosis quística

Investigadores principales:

Dr. Mario Humberto Vargas Becerra, Dra Rosangela Del Razo Rodríguez.

¿Por qué te pedimos que leas esto? Porque queremos platicarte de un estudio que estamos haciendo en niños que, como tú, tienen una enfermedad llamada fibrosis quística. Queremos saber si quieres participar en este estudio y en esta hoja de diremos de qué se trata. Si algo no entiendes, puedes preguntar lo que quieres a nosotros o a tu mamá o papá. Hemos discutido esta investigación con tus padres y ellos saben que te estamos preguntando a ti también para tu aceptación. Si vas a participar en la investigación, tus padres también tienen que aceptarlo. Pero si no deseas tomar parte en la investigación no tienes por qué hacerlo, aún cuando tus padres lo hayan aceptado. Puede que haya algunas palabras que no entiendas o cosas que quieras que te las explique mejor porque estás interesado o preocupado por ellas. Por favor, puedes pedirme que pare en cualquier momento y me tomaré tiempo para explicártelo.

¿Por qué se está haciendo este estudio? En este estudio queremos saber si un polvo que se usa para tratar enfermedades inflamatorias puede ayudarte a sentirte mejor y para averiguarlo tenemos que probarlo. Estamos probando este medicamento en niños de tu edad, entre los 5 y los 15 años, que tienen fibrosis quística.

¿De qué se trata el estudio? Si deseas participar en el estudio harás lo siguiente:

El estudio durará más o menos 4 meses.

Habrás dos tipos de polvos: uno con el medicamento que estamos probando y otro con una sustancia que no tiene medicamento y que por eso se llama “placebo”. La razón por la que se usan los dos polvos es para poder saber si el medicamento ayuda a mejorar los síntomas de la fibrosis quística. Primero tomarás uno de los polvos por 8 semanas y luego cambiarás al otro polvo por otras 8 semanas, pero tú ni tus papás sabrán cuál de los dos polvos estás tomando.

Todos los días tomarás el polvo que te tocó, disuelto en alguna bebida, además de los medicamentos que usas para la fibrosis quística.

Tendrás que venir al hospital cada 4 semanas en cinco ocasiones para revisarte y para que nos digas cómo te sientes y a hacer las preguntas que tengas.

Cuando vengas al hospital te daremos un cuestionario que tardarás máximo 10 minutos en llenarlo y en él te preguntaremos como te sientes de la fibrosis quística.

El primer día y cada que vengas al hospital haremos un estudio llamado espirometría que consiste en soplar muy fuerte en un aparato y así sabremos cuanto aire cabe en tus pulmones y que tan rápido puedes sacar el aire. Luego te aplicaremos un medicamento en spray llamado salbutamol a través de una cámara con mascarilla, esperaremos 20 min y te realizaremos nuevamente la prueba para ver qué tanta respuesta tienen tus pulmones a dicho medicamento.

El primer día y cada que vengas al hospital te tomaremos una muestra de sangre para poder medir sustancias que nos servirán para saber si te encuentras bien y para saber si algunas sustancias mejoran después de que tomes el polvo.

El primer día y cada que vengas al hospital tomaremos una muestra de tu flema. Si no puedes darla por ti mismo, podemos ayudarte al ponerte a respirar en nube de agua salada a través de una mascarilla, y algunos minutos después deberás escupir la flema en unos frascos que te daremos.

En tu casa, junto con tu mamá o papá llenarás un diario en el que anotarás como están las molestias de la fibrosis quística y cuando vengas a tus visitas al hospital sabremos cómo te has sentido.

¿Me causará dolor participar en el estudio? La toma de muestra de sangre te causará un poco de dolor ya que será necesario tomarla con una jeringa y una aguja, este dolor pasará pronto. Puede quedarte un pequeño moretón en el lugar donde se toma la muestra, pero desaparecerá en pocos días y no causará dolor.

Las dosis del polvo que probaremos, se han usado en otros estudios y no han dado otras molestias, pero si sientes algo diferente o extraño, deberás decirle a tus papás y a los doctores cuando acudas a las visitas al hospital.

¿Te sentirás mejor si participas en el estudio? Este estudio puede no hacerte sentir mejor, pero los doctores podrán encontrar algo que puede ayudar a otros niños como tú después.

¿Tienes alguna pregunta? Puedes preguntar cualquier cosa en cualquier momento, ahora o después. Puedes preguntar a los doctores, a tus padres o a quien tú quieras.

¿Quién sabrá que participaste en el estudio? Cualquier información que proporciones y se obtenga en el estudio será privada (secreta). Tu nombre no aparecerá en ningún papel del estudio, sólo los doctores y tu familia sabrán que estás participando en el estudio.

¿Tienes que participar en el estudio? No tienes que participar en el estudio, si no lo deseas. No pasará nada malo si decides no participar. Es tu decisión si decides participar o no en la investigación, está bien y no cambiará nada. También les preguntaremos a tus padres si desean que tú participes en el estudio. Aún cuando tus padres decidan que puedes participar tú puedes decir que no. Aún cuando digas que sí, podrás cambiar de opinión después, al igual que si dices que no y después deseas participar.

¿Tienes alguna duda o pregunta?

Asentimiento

Deseo participar en este estudio, sé que puedo cambiar de opinión en cualquier momento.

Nombre del niño _____

Asentimiento verbal Sí___ No___

Firma del niño _____

Edad_____ Fecha_____

Confirmando que he explicado el estudio al participante y el participante ha aceptado participar en el estudio.

Nombre y firma de quien

obtuvo el asentimiento

Fecha

Nombre y firma de un testigo

Si requiere mayor información puede comunicarse directamente con: Dra. Rosangela Del Razo Rodríguez a los teléfonos: 044 (55) 27 51 22 29 ó vía Internet: rosangelarr@yahoo.com. Tu participación es importante!