



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL DE PEDIATRÍA, CMN SIGLO XXI
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA**

**Estudio clínico controlado para evaluar la
capacidad de la glicina por vía oral para
disminuir la inflamación de las vías aéreas
durante una crisis asmática en niños**

INFORME PRELIMINAR

T E S I S

QUE PARA OBTENER LA ESPECIALIDAD EN

PEDIATRÍA MÉDICA

PRESENTA

Dr. Christian Nava Bello

Tutor:

Dra. en C. M María Elena Yuriko Furuya Meguro

Asesor Metodológico:

M. C. Dr.. Mario Humberto Vargas Becerra

2011



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

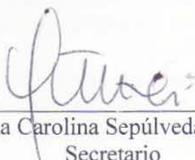
DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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.



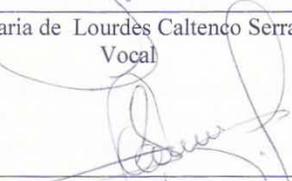
Dr. Héctor J. Gonzalez Cabello
Presidente



Dra. Ana Carolina Sepúlveda Vildósola
Secretario



Dra. Maria de Lourdes Caltenco Serrano
Vocal



Dr. Jesus Arias Gomez
Vocal



Dr. Juan Carlos Marin Santana
Vocal

Tesista

Dr. Christian Nava Bello

Médico Residente de Pediatría Médica,
Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS

Investigadores

Dra. Ma. Elena Yuriko Furuya Meguro

Neumopediatra, Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Respiratorias,
Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS

Dr. Mario Humberto Vargas Becerra

Neumólogo, Jefe de la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Respiratorias,
Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS

Dra. Rebeca García Macedo

Adscrita a la Unidad de Investigación Médica en Bioquímica,
Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS

QFB Jorge Maldonado Hernández

Químico en alimentos, Adscrito a la Unidad de Investigación Médica en Nutrición,
Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS

Dra. Ma. Teresa Valdovinos Ponce

Pediatra Adscrito al servicio de Urgencias
Hospital General Regional no. 1 Carlos McGregor Sanchez Navarro IMSS

2011

INDICE

	Pag.
Resumen	05
Antecedentes	06
Marcadores de inflamación en crisis asmática	07
Glicina y su efecto antiinflamatorio	09
Usos diversos de glicina en seres humanos y efectos adversos	10
Justificación	13
Planteamiento del problema	13
Hipótesis	13
Objetivos	14
Material y métodos	15
Diseño del estudio	15
Sitio	15
Pacientes	15
Glinica dosificación	16
Placebo	17
Criterios de selección	17
Tamaño de la muestra	17
Variables	20
Análisis estadístico	22
Consideraciones éticas	23
Resultados	24
Tabla 1 Características basales de los pacientes	25
Tabla 2 comparación del estado basal vs día 7 en el grupo I	26
Tabla 3 comparación del estado basal vs día 7 en el grupo II	26
Tabla 4 comparación entre ambos grupos al día 7	27
Discusión	29
Conclusiones	33
Bibliografía	36
Anexos	40

RESUMEN

Estudio clínico controlado para evaluar la capacidad de la glicina por vía oral para disminuir la inflamación de las vías aéreas durante una crisis asmática en niños

Nava-Bello C¹, Furuya MEY², Vargas MH,² Valdovinos-Ponce MT³, García-Macedo R⁴, Maldonado-Hernández J⁵ H. Pediatría ¹UIMER², UIMN⁵, UIMB⁴, CMN SXXI, Servicio de Urgencias HGR No. 1 IMSS³

Antecedentes. El asma es la enfermedad respiratoria más frecuente en los niños; es un proceso inflamatorio crónico en donde intervienen múltiples células y mediadores de inflamación que ocasionan obstrucción reversible al flujo aéreo. En la crisis asmática se ha documentado un incremento de factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), interleucina 8 (IL-8), mieloperoxidasa (MPO), eosinófilos, neutrófilos séricos y la proteína C reactiva de alta sensibilidad (HsCRP) La glicina es un aminoácido que forma parte de las proteínas y es un agonista para receptores de glicina (GlyR). En células excitables como las neuronas la glicina funciona como un neurotransmisor inhibitorio, y en otras células como las de Kupffer, los macrófagos alveolares y los neutrófilos actúa disminuyendo su sensibilidad a estímulos proinflamatorios. **Objetivo:** Evaluar si la administración de glicina por vía oral a niños con crisis asmática bajo tratamiento habitual disminuye la inflamación de las vías aéreas, en comparación con un grupo control. **Material y métodos** Se estudiaron niños que acudían a urgencias con crisis asmática. Previa firma del consentimiento por los padres se formaron aleatoriamente dos grupos. Ambos recibieron el tratamiento recomendado por guías internacionales, pero el grupo experimental recibió además glicina por vía oral 14 g/día por 6 días, disuelta en 100 ml de agua con saborizante, mientras que el grupo control recibió placebo (sucralosa+maltodextrina). A su ingreso a Urgencias y al séptimo día se determinaron variables demográficas, flujo espiratorio máximo (% PEF), saturación periférica de oxígeno (SpO₂) gravedad clínica, eosinófilos y neutrófilos en sangre periférica, HsCRP, IL-8, TNF- α y (MPO) séricos. **Análisis estadístico:** Mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov se corroboró distribución normal en las variables. Se empleó prueba t de Student para cada una de las variables pareada (comparación de mediciones basales vs día 7) o no pareada (comparaciones de ambos grupos). En el caso de la IL-8 y el TNF- α por valores no detectables la comparación de los grupos se hizo empleando estadística no paramétrica con prueba U de Mann-Whitney. Las variables categóricas se evaluaron mediante prueba exacta de Fisher. **Resultados** Se incluyeron 10 niños por grupo. Al comparar ambos grupos no hubo diferencias significativas en las condiciones basales, excepto que los niños del grupo control tenían mayor peso e IMC. Al comparar el estado basal vs día 7, en ambos grupos, disminuyó significativamente la HsCRP y mejoraron el %PEF y SpO₂. Para el grupo experimental además disminuyeron significativamente los neutrófilos (p=0.01), IL8 (p=0.052) y MPO (p=0.02). **Conclusiones.** Hay una tendencia a disminuir los marcadores de inflamación en el grupo que recibió glicina.

ANTECEDENTES

El asma es una enfermedad crónica de las vías aéreas que afecta a un amplio porcentaje de la población a nivel mundial. En México el estudio internacional de Asma y alergias en niños, ISAAC, se aplicó en la ciudad de Cuernavaca, Morelos, reportando una prevalencia del 6.6%, en Hermosillo Sonora la prevalencia fue del 9% y en la ciudad de México fue de alrededor del 5%¹. En los EUA se estima que existen unas 700,000 mil visitas al servicio de urgencias por asma, afectando a 1 de cada 13 niños en la edad escolar; además se considera una de las principales causas de ausentismo escolar con un impacto económico enorme. Es la tercera causa de ingresos hospitalarios, y la responsable de unas 200,000 mil hospitalizaciones en niños menores de 15 años.²

Por razones hasta ahora desconocidas su frecuencia se incrementó notablemente en las últimas décadas, aunque al parecer esta tendencia se ha estabilizado. Durante la niñez es más común en el sexo masculino, aunque puede afectar a ambos sexos, mientras que a partir de la adolescencia predomina en las mujeres.³

Desde el punto de vista clínico el asma se manifiesta por episodios de tos, sibilancias, expectoración, disnea y/o sensación de opresión torácica, estos episodios denominados exacerbaciones o crisis asmáticas, pueden ser de leve intensidad y rápidamente reversibles mediante broncodilatadores o, por el contrario, ser tan intensos y de difícil control que pone en peligro la vida del paciente. Las crisis asmáticas suelen desencadenarse por estímulos comunes como el ejercicio físico, la inhalación de aire frío o las emociones intensas, pero incluso la variabilidad circadiana propia del organismo puede ser suficiente para que durante la madrugada se presenten los síntomas.

En cerca de la mitad de los sujetos con asma las pruebas cutáneas para detección de alergia a diversas proteínas suelen ser positivas, sugiriendo que la respuesta alérgica es un elemento importante en el establecimiento y persistencia de la enfermedad. Ya sea que este componente de alergia esté presente (asma alérgica) o ausente (asma no alérgica), en todo paciente asmático existe un proceso inflamatorio crónico en las vías aéreas, las cuales están infiltradas principalmente por eosinófilos, linfocitos y mastocitos, todos ellos en estado de activación.⁴

Se desconoce con precisión cuál es la secuencia de eventos que da lugar al establecimiento de la inflamación en las vías aéreas, pero se considera que la unión del antígeno a las IgE fijas a la membrana de los mastocitos puede ser el evento iniciador que promueve la liberación de citocinas proinflamatorias (IL-4, IL-5, IL-6, IL-13, TNF- α , TGF- β , etc.), compuestos bioactivos (histamina, PGD₂, PAF, etc.) y proteasas (tripsina, quimasa, etc.).⁵ De forma alternativa, recientemente se ha propuesto que las células epiteliales de las vías aéreas podrían ser las iniciadoras de la inflamación, al liberar diversas citocinas (IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , EGF, RANTES, TSLP, etc.) como respuesta a un estímulo nocivo aún no identificado que erróneamente deja "encendida" la señal de reparación epitelial.^{6,7}

La inflamación crónica de las vías aéreas en el paciente asmático se exagera ante los estímulos antes mencionados, así como las infecciones virales respiratorias y cuando el sujeto se expone a alérgenos, pudiendo ocasionar descontrol del asma y crisis asmáticas.⁸ Independientemente del factor que desencadena la crisis asmática, la inflamación se incrementa en las paredes de las vías aéreas.⁹

Marcadores de inflamación en crisis asmática

En vista de la importancia de la inflamación en la patogénesis del asma, en las últimas décadas se ha despertado mucho interés en la búsqueda de diversos componentes de la respuesta inflamatoria que pudieran servir para el diagnóstico y/o clasificación de la gravedad en asma.

Aunque la infiltración de las vías aéreas por eosinófilos no es suficiente para explicar todos los fenómenos del asma, se conoce que la *eosinofilia* en la expectoración de los pacientes asmáticos es uno de los mejores marcadores de inflamación, útil para el seguimiento del paciente asmático. Además, se ha demostrado que es un factor de riesgo para el desarrollo de remodelación irreversible y cambios en la función pulmonar.¹⁰⁻¹² La detección de compuestos derivados de los eosinófilos, como la *proteína catiónica eosinofílica (ECP)*, ya sea en suero o en expectoración, se considera un marcador sensible de la activación eosinofílica en la inflamación en el paciente asmático¹³ y los cambios en la disminución del número de eosinófilos o en la concentración de la ECP son de los marcadores más sensibles de una respuesta antiinflamatoria a los corticosteroides.¹⁴

En asma grave persistente y en crisis asmática se ha reconocido también la existencia de *inflamación neutrofílica*, lo que implica mayor reclutamiento de neutrófilos, incremento de la supervivencia de los mismos o ambas cosas.^{15,16} Los neutrófilos activados participan en la fisiopatología de la enfermedad de la vía aérea en forma multifactorial, compleja y dependiente de interacciones entre citocinas, otras células inflamatorias, incremento de expresión de moléculas de adhesión y liberación de enzimas como la elastasa, catépsina G y *mieloperoxidasa (MPO)*.^{17,18} Esta inflamación puede ser desencadenada por estímulos físicos, infecciones virales, ozono, entre otros, a través de quimioatrayentes de neutrófilos como la IL-8.¹⁹ Por el contrario, otros mediadores de inflamación como TNF- α y el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) han mostrado inhibir a la apoptosis de neutrófilos²⁰ y, más aún, los corticosteroides pueden exacerbar la neutrofilia mejorando la supervivencia de los neutrófilos, contribuyendo a su incremento tanto en secreción pulmonar como en sangre periférica.²¹

En un estudio en 20 niños con asma alérgica se encontró que las concentraciones séricas de IL-8 eran significativamente más elevadas en comparación con niños controles, pero dichas concentraciones no variaban si los niños estaban en crisis asmática o en fase estable²². Hallazgos similares se encontraron en un estudio subsecuente evaluando la concentración sérica de IL-5.²³ Otro estudio analizó los biomarcadores presentes en la expectoración (espontánea o inducida por solución salina) en 38 niños que sufrían una crisis asmática. Los autores encontraron que la celularidad total y la eosinofilia en la expectoración fueron significativamente mayores durante la crisis y lo mismo ocurrió con la ECP, MPO (enzima liberada por los neutrófilos) y la IL-8.¹⁶

Las citocinas juegan un papel importante en la inflamación crónica. Entre las interleucinas que parecen tener mayor importancia en la fisiopatología del asma están las secretadas por las células TH₂, la IL-4 e IL-13, que son reguladoras de los linfocitos B para la formación de IgE, y la IL-5 que es importante para la diferenciación y supervivencia de los eosinófilos. Otras citocinas como la IL-1, IL-6, TNF- α , y GM-CSF se liberan de una variedad de células y se encargan de amplificar la respuesta inflamatoria.^{21,23}

Recientemente se ha propuesto que la concentración sérica de HsCRP constituye un marcador útil de inflamación en el asma con valores mayores en pacientes asmáticos

en comparación con sujetos controles;²⁴ estas concentraciones son aún mayores durante una crisis asmática y disminuyen al remitir la exacerbación.²⁵ Las cifras reportadas son variables y van de 0.09 a 1.42 mg/dl durante una crisis asmática, a 0.04 a 0.19 mg/dl en pacientes controlados^{24,25}

Glicina y su efecto antiinflamatorio

La glicina es el más simple de los aminoácidos, no tóxico y no esencial, como tal, es parte constitutiva de las proteínas. Ha sido bien caracterizada en la médula espinal como un neurotransmisor inhibitorio que permite el flujo de cloro a través de canales de cloro activados por glicina (GlyR), favoreciendo la hiperpolarización de la membrana plasmática. Tiene efectos similares inhibitorios en varias células de la serie blanca, incluyendo las células de Kupffer, macrófagos alveolares, neutrófilos y linfocitos, disminuyendo su sensibilidad a los estímulos proinflamatorios.²⁶ Bajo condiciones fisiológicas los niveles de glicina en humanos oscilan entre 200-400 $\mu\text{mol/L}$.²⁷

En estudios *in vitro* se ha corroborado la capacidad de la glicina para inhibir la producción de TNF- α y de anión superóxido en macrófagos alveolares.²⁸ Spittler y col., además de corroborar este efecto, encontraron supresión de IL-1 e incremento de la expresión de IL-10 de monocitos aislados, confirmando los efectos inmunosupresores de la glicina.²⁹ En estudios realizados en animales de laboratorio la glicina ha mostrado efectos antiinflamatorios potentes ante ciertos estímulos. Así, en 1996 Ikejima y col. demostraron que una dieta enriquecida con 5% de glicina disminuía las lesiones hepáticas y la mortalidad en un modelo de choque endotóxico en ratas, a la vez que evitaba la elevación sérica de TNF- α .³⁰ En 2000 Wheeler y col. observaron en este mismo tipo de modelo de choque endotóxico que 4 semanas de administración de dietas conteniendo 5% de glicina también disminuía importantemente la inflamación pulmonar neutrofílica, en comparación con animales controles que consumieron dieta con 5% de caseína.³¹ Además, otros estudios en modelos animales han encontrado que la glicina protege al intestino, al riñón y al pulmón de la lesión por isquemia-reperfusión, que es un tipo de lesión donde se considera que los neutrófilos desempeñan un papel importante en la producción del daño endotelial.³²⁻³⁴ También se han encontrado que la glicina disminuye el efecto nefrotóxico, la hipoxia y la producción de radicales libres inducidos por la ciclosporina A.³⁵ No se sabe con exactitud como actúa, pero se considera que los efectos inhibitorios en los

mecanismos de señalización celular en células que contienen GlyR es la forma en que la glicina ejerce sus efectos benéficos²⁶.

A nivel hepático en un modelo de sepsis en ratas por ligadura y punción del ciego, Yang y col. encontraron que la glicina (0.6 mmol/Kg), administrada 1 h después por vía intravenosa, tenía efectos benéficos ya que mantuvo la función hepática probablemente al disminuir un 80% la producción de TNF- α , medida a las 5 horas. Más aún, la glicina evitó la mortalidad al día 10 en el 100% de las ratas, mientras que en el grupo control ocurrió en el 50% de los animales.³⁶

En estudios experimentales in vitro García y cols. demostraron que al añadir glicina en un medio de cultivo para diferenciación de fibroblastos a adipocitos se disminuyó la expresión de adipocinas proinflamatorias como TNF- α , IL6 y resistina por lo que consideran que la glicina puede ser un modulador importante del estado proinflamatorio. En estudios in vivo Alarcón-Aguilar y cols. sugieren que la glicina suprime la producción de citocinas proinflamatorias a través de la expresión del proliferador activado peroxisomal de receptor gama (PPAR- γ).³⁷

Usos diversos 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 para irrigación local de resecciones transuretrales de próstata o vesical,³⁸ y desde hace más de 60 años se menciona como una medida terapéutica para la miastenia gravis y la distrofia muscular progresiva.³⁹

Como suplemento, se administra en forma de polvo blanco de sabor ligeramente dulce, fácilmente soluble en agua y de costo accesible (alrededor de \$180 pesos el kilogramo). También ha sido utilizada en forma parenteral como complemento de aminoácidos en la alimentación parenteral total, y como un agente antiácido.

En México, Carvajal y col. han empleado la glicina para el manejo adicional de la diabetes mellitus debido a su capacidad para disminuir la glucosilación no enzimática de proteínas.⁴⁰ 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 glucosilada. En un estudio clínico controlado reciente, en el que se investigaba el efecto de la glicina sobre la reestenosis después de angioplastia coronaria,

un total de 111 pacientes recibieron glicina por vía oral dos veces al día durante 6 meses.⁴¹ 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 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.⁴²⁻⁴³ 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. El tratamiento fue bien tolerado por el paciente y, como se esperaba, incrementó la excreción urinaria del ácido isovalérico.⁴⁴ 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. Los autores encontraron una mejoría en la memoria y atención, sin efectos adversos.⁴⁵

En un estudio aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, se utilizó la glicina en 200 pacientes con menos de 6 horas de haber sufrido un evento isquémico cerebral en el territorio de la arteria carótida.⁴⁶ Se administró de 0.5 a 2 g/día de glicina sublingual por 5 días o placebo. Los resultados sugirieron que la glicina puede proteger contra la expansión del daño cerebral que generalmente sigue a una apoplejía, se acompañó de una tendencia para disminuir la mortalidad a los 30 días y mejoró significativamente la evolución clínica. Se confirmó el perfil seguro de la administración de glicina ya que como único efecto secundario se observó ligera sedación en 9 pacientes.

Debido a la capacidad de la glicina de prevenir la activación de las células de Kupffer y la lesión por isquemia-reperfusión, Luntz y col. están actualmente llevando a cabo un estudio clínico controlado y multicéntrico para investigar los efectos hepatoprotectores de este aminoácido en el postoperatorio del trasplante hepático.⁴⁷ Este grupo de trabajo afirma que los estudios experimentales y clínicos han demostrado que la glicina es segura para su uso en pacientes.

Basados en todos los hallazgos *in vitro* e *in vivo*, tanto en animales como en humanos, Wheeler y col., en su extensa revisión sobre la glicina, proponen su uso en el

tratamiento de múltiples enfermedades inflamatorias en el humano. Dentro las enfermedades respiratorias establecen que hay suficiente evidencia para probar su utilidad en síndrome de dificultad respiratoria del adulto y asma, sugiriendo la realización de protocolos de investigación para conocer la aplicación clínica de la dieta con suplemento con glicina, augurando resultados prometedores.³¹

Al respecto, Fogarty y col. en un estudio de casos y controles realizado en 89 adultos asmáticos y 89 controles encontraron que la glicina plasmática aumentada se asociaba a un menor riesgo de asma.⁴⁸ Los autores de este estudio apoyan un posible papel protector de la glicina al formar parte del glutatión, una molécula que regula el estado de oxidación intracelular y que puede ser importante en la patogénesis del asma, así como porque en modelos experimentales una dieta suplementada con glicina disminuye el estrés oxidativo, aumenta la actividad de enzimas antioxidantes, disminuye la expresión de factor nuclear κ B y de la sintetasa del óxido nítrico, ambos asociados a la inflamación en asma.⁴⁹

En resumen, en los estudios realizados en humanos no se han reportado efectos graves por el uso de glicina, aun en dosis tan altas como 60 g por día⁵⁰ y los efectos indeseables reportados con el uso de la glicina administrada por vía oral en humanos han sido inexistentes^{40,41,45} o leves, como malestar abdominal, náusea y vómito, que desaparecen al suspenderla.^{43,44} Administrada por vía parenteral durante 5 días en pacientes con menos de 6 horas de haber sufrido un evento cerebral se encontró ligera sedación en el 4.5% de ellos, sin que los autores pudieran concluir que este efecto fue directamente secundario a la ingestión de la glicina.⁴⁶

Por todo lo anterior, y considerando que los niños con asma cursan con un proceso inflamatorio intenso en sus vías aéreas y que la glicina tiene efectos antiinflamatorios, sin efectos adversos graves, se propone el siguiente estudio para evaluar la capacidad de este aminoácido para disminuir la inflamación de las vías aéreas en niños con crisis asmática en forma mayor que aquellos que reciben solo corticosteroides en el tratamiento habitual recomendado por las guías internacionales⁵¹ para el manejo de la crisis asmática.

JUSTIFICACION

La crisis asmática continúa siendo uno de los principales motivos de consulta en urgencias y representa una exacerbación del proceso inflamatorio en las vías aéreas. La disminución de esta inflamación determina mejoría clínica y funcional y por consiguiente, una menor estancia en los servicios de urgencias y hospitalización. Se ha probado que la glicina tiene efectos antiinflamatorios, sin efectos adversos de importancia, por lo que se propone el siguiente estudio para evaluar la capacidad de este aminoácido para disminuir la inflamación de las vías aéreas en niños con crisis asmática.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Podrá un suplemento oral de glicina, agregado al tratamiento habitual establecido por las guías internacionales de la Iniciativa Global para el Asma (**anexo 1**), favorecer una mayor disminución de la inflamación de las vías aéreas en niños con crisis asmática?

HIPOTESIS

Los niños en crisis asmática que reciben el tratamiento habitual establecido por las guías internacionales de GINA (anexo 1) mas un suplemento oral de glicina tendrán, en comparación con los niños que reciben el mismo tratamiento establecido por las guías y un placebo:

- a) Disminución del 15% de los marcadores de inflamación IL-8, TNF- α , MPO y HsCRP.
- b) Disminución del 15% de las cuentas de neutrófilos y eosinófilos en sangre.
- c) Disminución de la gravedad de la crisis asmática, reflejada como:
 - Incremento del 15% en la medición del flujo espiratorio máximo (PEF) a los 7 días comparado con los valores basales.

OBJETIVOS

General

Evaluar si la administración de glicina por vía oral a niños con crisis asmática bajo tratamiento habitual disminuye la inflamación de las vías aéreas, en comparación con un grupo control que sólo recibe el tratamiento habitual para la crisis asmática.

Objetivos principales

1. Comparar la evolución de los niveles séricos de IL-8, TNF- α , MPO y HsCRP, en niños con crisis asmática con y sin suplemento de glicina.
2. Comparar la evolución de la celularidad sérica (eosinófilos y neutrófilos) en ambos grupos

Objetivos secundarios

3. Comparar la evolución de la clasificación de gravedad de la crisis asmática en niños (**anexo 2**) con y sin suplemento de glicina.
4. Comparar el comportamiento del PEF en niños con crisis asmática con y sin suplemento de glicina.

MATERIAL Y METODOS

Diseño del estudio: Se trató de un estudio clínico controlado, cegado para el médico tratante (TVP), el cual fue el único médico en hacer las valoraciones clínicas de todos nuestros pacientes, capacitado en Neumología pediátrica, con adiestramiento en la UMAE Hospital de pediatría del CMN Siglo XXI; para el paciente y sus familiares y para los que realizaron las determinaciones clínicas y de laboratorio.

Sitio: Servicio de urgencias de pediatría del Hospital Regional No. 1 “Carlos Mc Gregor Navarro” del IMSS, Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Respiratorias UMAE Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Unidad de Investigación en Bioquímica UMAE, Hospital de Especialidades CMN SXXI.

Pacientes: Se invitó a participar en el estudio a pacientes que acudieron en el turno matutino al servicio de urgencias de pediatría del Hospital Regional No. 1 “Carlos McGregor Navarro” del IMSS, con crisis asmática y que cumplieran con los criterios de inclusión. En forma simultánea a la evaluación inmediata y aplicación de las medidas de urgencia al paciente por parte del médico tratante, se dialogó con los padres o tutores en un área separada, se explicó en que consistía el proyecto y se leyó la carta de consentimiento informado. Se contestaron preguntas o inquietudes que presentaron los padres quienes de aceptar, firmaron la carta de consentimiento informado (anexo 3). De la misma manera, cuando el paciente era mayor de 8 años, se le explicó en forma breve en que consistía el estudio y se le solicitó firmar la carta de asentimiento (anexo 4). Contando con las autorizaciones previas, se procedió a la aleatorización, mediante una tabla de números aleatorios para la asignación de los pacientes a uno de los dos grupos, el grupo experimental y el grupo control.

Una vez ingresado al estudio se clasificó su gravedad mediante evaluación clínica, PEF y saturometría de oxígeno de pulso (SpO₂) y se dio tratamiento de acuerdo a lo establecido por GINA (anexo 1); además, el grupo experimental recibió glicina a dosis de 14g/día VO y el grupo control placebo (sucralosa con maltodextrina) disueltos en 100 ml de agua con jugo de uva natural, cada 12 h x 6 días.

Al ingreso y al 7 día, se hizo determinación de estado de gravedad clínica, PEF y SpO₂, marcadores de inflamación séricos (IL-8, TNF- α , MPO, HsCRP), y determinación de eosinófilos y neutrófilos en sangre periférica.

Durante los 6 días de toma de glicina o placebo, se contactó vía telefónica a ambos grupos para corroborar la aplicación de la maniobras y para interrogar la presencia de posibles efectos adversos de la glicina. Para las determinaciones séricas se realizó punción de una vena periférica y se obtuvieron 10 ml de sangre, de los cuales 1 ml se colectó en un tubo con anticoagulante para la determinación de biometría hemática completa para la cuenta celular diferencial. Los 9 ml restantes se centrifugaron y el suero se repartió en alícuotas de la siguiente manera: Para la determinación de IL-8, dos alícuotas de 75 μ l; para TNF- α 2 alícuotas de 225 μ l, para MPO dos alícuotas de 100 μ l para cada una y para HsCRP una alícuota de 400 μ l todas se colocaron inmediatamente en hielo y se transportaron al laboratorio, donde se congelaron a -20°C hasta su análisis. Para la evaluación y toma de muestras del 7º día, se citó al paciente al servicio de Urgencias del Hospital Regional No. 1 del IMSS. El médico tratante del servicio de urgencias que realizó las mediciones de gravedad de la crisis, del PEF y que tomó las decisiones terapéuticas y de alta a domicilio o internamiento al hospital estuvo cegado durante todo el proceso. Se indicó a los padres o tutores, avisar inmediatamente la presencia de efectos colaterales (especificados en la carta de consentimiento informado) a través de una línea directa de comunicación con uno de los investigadores. Además, en la segunda evaluación se realizó interrogatorio dirigido en búsqueda de efectos adversos para su registro en hoja específica (anexo 5)

GLICINA, DOSIFICACION

La determinación de la dosis se derivó tomando en cuenta los siguientes estudios: en adultos mexicanos con diabetes la dosis usada por Carvajal y col.⁴⁰ fue de 20 g/día. Si se toma 60 Kg como peso promedio de un adulto mexicano, la dosis equivaldría a 0.33 g/Kg/día. Esto coincide con diversos estudios sobre esquizofrenia en adultos (comentados por Heresco y col.⁴²⁻⁴³ en donde se han empleado dosis de glicina que van de 5 a 30 g/día, demostrando además que una dosis de 0.8 g/Kg/día producía un incremento estadísticamente significativo en la concentración de glicina sérica. Finalmente, Fries y col. usaron 0.25 g/Kg/día en el manejo de una niña de 8 años con acidemia isovalérica.⁴⁴ Por lo tanto tomando en cuenta los estudios previos y ya que no hay aun estudios en niños se toma como una dosis promedio de 14g al día tomando en cuenta un promedio de 40 Kg se obtiene una dosis 0.35 mg/Kg/día.

PLACEBO

La apariencia y el sabor del placebo elegido es un edulcorante natural (sucralosa con maltodextrina) semejante al de la glicina y tiene la ventaja de que no se absorbe. La dosis de placebo utilizada fue de 0.25 g para igualar el sabor al grupo experimental. Los frascos con la dosis exacta de glicina y placebo, se prepararon con ayuda de una báscula digital de precisión, se identificó por un código conocido solo por el investigador responsable.

La preparación de la glicina y el placebo se llevó a cabo en el Laboratorio de la Unidad de Investigación en Nutrición de la UMAE Hospital de pediatría CMN SXXI.

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de inclusión

- Niños de cualquier sexo, entre 6 y 16 años 364 días de edad. (La edad mínima se escogió porque es la edad a la que los niños comienzan a ser lo suficientemente cooperadores para realizar la medición del PEF.)
- Con diagnóstico de asma y en crisis asmática.
- Que sus padres o tutores legales aceptaran la realización del estudio mediante su firma de la carta de consentimiento informado (anexo 3).

Criterios de exclusión

- Pacientes que por algún motivo tuvieran contraindicada la vía oral.

Criterios de eliminación

- Pacientes que no tomaran la dosis diaria de glicina.
- Pacientes en quienes no se lograra tomar las 2 muestras sanguíneas.
- Presencia de efectos adversos serios atribuibles a la glicina, en cuyo caso se consideraría como falla terapéutica en el análisis estadístico.

TAMAÑO DE LA MUESTRA.

Al inicio del protocolo, debido a que no existían antecedentes del uso de glicina con los fines que se persiguen en este estudio, se estableció realizar un grupo piloto de 10 pacientes por grupo. Con estos resultados se procedió a calcular el poder del estudio con los resultados de cifras de los neutrófilos en aquellos niños que tomaron suplemento de glicina por 7 días ($p=0.045$ a una cola), encontramos que tan solo era del 53%. Lo anterior señala que es necesario incrementar el número de pacientes, y al emplear estos

mismos resultados para calcular el tamaño requerido el resultado es de al menos 21 pacientes por grupo.

Medición del flujo espiratorio máximo (PEF)

El PEF es la velocidad máxima del aire en espiración forzada, realizada tras una insuflación máxima pulmonar. Esta medición evalúa el grado de obstrucción de las vías aéreas de gran calibre. Se mide en L/min con la ayuda de un medidor de flujo espiratorio máximo, que consta de un muelle conectado a una escala medidora (en L/min), un émbolo que empuja ese muelle y una boquilla por donde sopla el sujeto. Existe una gran correlación entre el PEF y el FEV₁, aunque este último es más sensible y muestra menos variabilidad individual. Técnica: Se seguirán los lineamientos sugeridos por la *American Thoracic Society* y la *European Respiratory Society*. De pie, con el cuerpo relajado, se toma el medidor con una mano, sin entorpecer el tránsito del muelle y con el indicador en 0, se realiza una inspiración profunda, se pone la boquilla entre los labios, sellando bien los contornos y sin obstruir el paso de aire con la lengua y se realiza una espiración forzada rápida y explosiva de 1-2 segundos de duración. Se realizaran 3 mediciones y se anotara la mejor, comparando los valores teóricos de las tablas según la talla, sexo y edad del paciente. Se utilizó el valor absoluto, así como el porcentaje del teórico esperado para el sexo y talla. EL PEF además se utiliza para clasificar al asma, su gravedad (anexo1), y su respuesta al tratamiento. En nuestro estudio se utilizó el medidor de flujo máximo **TruZone®** el cual cumple con las normas técnicas mas recientes para medidores de flujo máximo portátiles establecidas por la *American Thoracic Society* así mismo satisface las directrices educativas recomendadas por el Programa Nacional de Educación y Prevención del Asma de los Institutos Nacionales de Salud (National Institutes of Health).

DETERMINACIÓN DE IL-8, TNF- α

Las determinaciones de estas interleucinas se realizaron mediante la técnica de ELISA utilizando reactivos comerciales. La sensibilidad de ambos ensayos es de 2 pg/ml. El método consistió en utilizar anticuerpos específicos anti-IL-8 y anti-TNF- α para detectar concentraciones de IL-8 y TNF- α en muestras séricas de 50 μ l, por duplicado, la

evaluación fue cegada. Se realizó una curva estándar con diferentes concentraciones conocidas de IL-8 y TNF- α y sus lecturas de densidad óptica correspondientes, ajustándose con una regresión lineal. El ensayo de ELISA se basa en un ensayo de sándwich múltiple usando dos anticuerpos específicos anti-IL-8 y anti-TNF- α como primer anticuerpo y un policlonal de conejo como segundo anticuerpo. El conjugado de identificación usado (tercer anticuerpo) es un anticuerpo de inmunoglobulinas totales acoplado a fosfatasa alcalina. Para el revelado se utiliza una solución con fosfato de nitrofenilo. Las lecturas de la reacción se realizan con un lector de placas de 96 pozos a 450 nm y 560 nm. Los coeficientes de variación intraensayo e interensayo deberán ser menores del 10%.

DETERMINACIÓN DE MIELOPEROXIDASA (MPO) SÉRICA

Se determinó mediante kits de ELISA (MBL Mescacup ECP Test, Medical and Biological Laboratories Co, LTD, Japan) que tiene un límite mínimo de sensibilidad de 0.125 ng/ml. A pozos recubiertos con anticuerpos monoclonales anti-MPO humana se agregaron 100 μ l de muestras séricas diluidas (1:5) y se incubaron por 60 min a temperatura ambiental. Después de lavar 4 veces, se agregó un anticuerpo policlonal MPO antihumano conjugado con 100 μ l de peroxidasa, se incubó por 60 min a temperatura ambiental, se lava 4 veces, se agrega 100 μ l de peroxidasa y la placa se incubó por 10 min a temperatura ambiental. Se agregan 100 μ l de una solución de 0.5 mol/L H₂SO₄ y se realizan las lecturas a 450 nm Al igual para la determinación de IL-8 y TNF- α , los coeficientes de variación intraensayo e interensayo deberán ser menores del 10%.

PROTEÍNA C REACTIVA DE ALTA SENSIBILIDAD (HsCRP)

Las muestras de sangre venosa periférica se centrifugaron durante 10 min a 1300 revoluciones por minuto y el suero se almacenó a -20°C hasta su análisis. La concentración de HsCRP en las muestras de suero se determinó mediante un kit comercial (Behring Latex-Enhanced, usando un nefelómetro Behring BN-100; Behring Diagnostics, Westwood, MA, EUA). La sensibilidad de este kit es de 0.04 a 5.0 mg/L. Los valores de la CRP medida por métodos convencionales se consideran anormales cuando son >0.800 mg/L.

VARIABLES

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Escala (tipo de valores)
Independiente			
Suplemento de glicina	Ración adicional de glicina, aminoácido cuya estructura química es la más simple funciona como elemento constitutivo de las proteínas y como mediador químico en diversas células.	Suplemento que se dará a los pacientes en dosis de 14g/día, y que se administrará por vía oral disuelto en 100 ml de jugo de uva natural.	Escala de medición: Categórica dicotómica. Valores: Sí, No
Dependientes			
Flujo espiratorio máximo (PEF)	Es la velocidad máxima del aire en espiración forzada, realizada tras una insuflación máxima pulmonar; reproduce el grado de obstrucción de las vías aéreas	Velocidad máxima del aire en espiración forzada, realizada tras una insuflación máxima pulmonar, medido con un flujometro según el ideal predicho para sexo, edad y estatura.	Escala de medición: Cuantitativa continua. Valor: Porcentaje del valor predicho, normal 100 ± 20
Saturometría de oxígeno de pulso (SpO₂).	Porcentaje de hemoglobina en la sangre periférica que se encuentra unida al oxígeno.	Porcentaje de oxihemoglobina en sangre periférica, medida a través de un oxímetro de pulso.	Escala de medición: Cuantitativa continua. Unidades: Porcentaje (0 a 100)
Interleucina 8 (IL-8),	Citocina producida por células del sistema inmune y no inmune con actividad quimiotáctica potente.	Cuantificación por ELISA de IL-8 sérica.	Escala de medición: Cuantitativa continua. Valores: pg/ml.
Factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α).	Citocina que estimula la fase aguda de la reacción inflamatoria, relacionada con otros mediadores celulares.	Cuantificación por ELISA TNF- α sérica.	Escala de medición: Cuantitativa continua. Valores: pg/ml.

Mielopeoxidasa (MPO).	Enzima que se encuentra fundamentalmente en los leucocitos y macrófagos a nivel lisosomal, en los gránulos azurófilos.	Concentración de MPO cuantificada mediante ELISA.	Escala de medición: Cuantitativa continua. Valores: mcg/ml.
Proteína C reactiva de alta sensibilidad (HsCRP)	Pentámero formado por unidades polipeptídicas se produce en el hígado por acción de la interleucinas y citocinas proinflamatorias.	Valor de HsCRP mediante ELISA	Escala de medición: Cuantitativa continua. Valores: mg/dl.
Demográficas			
Edad	Tiempo que ha vivido una persona desde su nacimiento.	Es la resta que resulta de la fecha actual menos la fecha de nacimiento.	Escala de medición: Cuantitativa continua. Categorías: Años.
Peso	Fuerza resultante de la acción de la gravedad sobre un cuerpo	Medición del niño colocándolo sobre una báscula.	Escala de medición: Cuantitativa continua. Categoría: Kg.
Talla	Es la medición de una persona desde los pies hasta la cabeza.	El valor que resulta de la medición con un estadímetro desde la cabeza hasta los pies, en los menores de años en posición supina y en los mayores de ésta edad en posición erecta.	Escala de medición: Cuantitativa continua. Categoría: cm.
Confusora			
Clasificación de la gravedad de asma	Escala que califica el grado de afectación respiratoria de los pacientes con crisis asmática.	Escala que especifica al calificar variables clínicas, flujométricas y de SpO2 para graduar la gravedad de la crisis asmática.	Escala de medición: Categórica. Valores: Leve, Moderada, Grave y Paro respiratorio inminente.
Uso reciente de esteroides	Tratamiento con esteroides administrado por cualquier vía (oral, inhalada o parenteral).	Estar recibiendo esteroides a cualquier dosis y vía de administración de las 2 semanas previas.	Variable: Categórica dicotómica. Valor: Sí, No.

ANALISIS ESTADISTICO

Mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov se corroboró que las variables de intervalo seguían una distribución normal. Por lo tanto, para cada una de las variables se empleó prueba t de Student pareada (comparación de mediciones basales vs día 7) o no pareada (comparaciones de ambos grupos). En el caso de la IL-8 y el TNF- α algunos valores quedaron por debajo del límite de detección, por lo que a esas muestras se les dio un valor arbitrario de una centésima por debajo del umbral de detección, y la comparación de los grupos se hizo empleando estadística no paramétrica con prueba U de Mann-Whitney. Las variables categóricas se evaluaron mediante prueba exacta de Fisher. La significancia estadística se fijó en $p < 0.05$ a una cola. Los datos se expresaron en texto como frecuencias o promedios \pm desviación estándar, al menos que se especifique lo contrario.

CONSIDERACIONES ETICAS

Se explicó ampliamente a los padres de los pacientes las características del estudio, así como las posibles complicaciones que se puedan tener. Se respetaron cabalmente los principios contenidos en el Código de Nuremberg, la Declaración de Helsinki y sus enmiendas y el Informe Belmont. De acuerdo al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación (Título Segundo, De los aspectos éticos de la investigación en seres humanos, Capítulos I, Artículo 17), este estudio se considera como riesgo mayor que el mínimo, ya que se extrajeron 10 ml de sangre mediante venopunción en 2 ocasiones y se emplearon métodos aleatorios de asignación a esquemas terapéuticos y se tiene control con placebo.

RESULTADOS

Se invitaron a participar a 25 pacientes de los cuales aceptaron entrar al estudio 24. El paciente que no acepto fue porque la madre tenía que consultarlo primero con el padre del niño y no pudo establecer comunicación con el mismo, por lo que declinó participar. De los 24 pacientes que aceptaron participar, 20 completaron el estudio, cuatro pacientes no acudieron para la toma de la segunda muestra..

De los 20 niños incluidos, 10 recibieron placebo formando el grupo I sin glicina, y 10 el grupo II con glicina. Las condiciones en el estado basal de ambos grupos se presentan en la tabla 1 en donde se observa que no hubo diferencias significativas entre grupos, a excepción del peso y del IMC que fueron mayores en el grupo sin glicina (p 0.03 y 0.01 respectivamente). Los valores de IMC estuvieron dentro de los valores normales.

La mayoría de los pacientes del grupo sin glicina tuvieron crisis asmática leve, y los clasificados de moderada o grave estuvieron en el grupo con glicina, sin embargo las diferencias no fueron significativas entre ambos grupos.

En el estado basal la saturación periférica de oxígeno, el flujo espiratorio máximo medido en L/min o en porcentaje del predicho, la biometría hemática y los marcadores de inflamación en ambos grupos fueron semejantes. Solo dos pacientes, uno en cada grupo, tuvieron datos clínicos de alergia (rinitis alérgica) al momento del inicio del estudio.

El diagnostico de asma se realizó a través de la historia clínica y a través de confirmar la reversibilidad del proceso obstructivo agudo con el uso del broncodilatador inhalado de acción rápida.

Tabla 1. Características basales de los pacientes

	Grupo I Sin glicina (n=10)	Grupo II Con glicina (n=10)	p^(a)
Edad (meses)	115.7 ± 35.7	100.2 ± 22.3	0.13
Sexo (M:F)	6:4	5:5	1.0 ^(b)
Talla (cm)	134.3 ± 16.4	127.5 ± 9.8	0.13
Peso (kg)	41.8 ± 16.1	28.7 ± 7.8	0.01
Índice de masa corporal	22.1 ± 5.3	17.3 ± 2.5	0.00
Frecuencia respiratoria (/min)	26.8 ± 5.4	32.6 ± 10.7	0.07
Frecuencia cardíaca (/min)	109.6 ± 21.2	114.4 ± 24.4	0.24
Temperatura (°C)	36.7 ± 0.5	36.9 ± 0.6	0.32
Clasificación de la crisis			
Leve (n)	9	4	0.06 ^(c)
Moderada (n)	1	3	
Grave (n)	0	3	
SpO ₂ (%)	90.3 ± 4.1	85.4 ± 10.7	0.09
PEF (L/min)	155.2 ± 49.9	138.5 ± 66.3	0.26
PEF (% predicho)	58.3 ± 16.7	55.9 ± 21	0.36
Biometría Hemática y marcadores de inflamación basales entre grupos			
Hemoglobina (g/dl)	15.1 ± 0.9	14.9 ± 0.9	0.27
Leucocitos (células/mm ³)	8936 ± 2172.4	10176 ± 3865.2	0.20
Neutrófilos (células/mm ³)	5393 ± 2038.9	7475 ± 4352.4	0.10
Eosinófilos (células/mm ³)	811 ± 515.3	631 ± 392	0.21
Hs CRP (pg/ml)	0.5 ± 0.3	0.9 ± 1	0.11
IL-8 (pg/ml) ⁺	79 ± 83	77.1 ± 83.5	0.46
TNF-α (pg/ml) ⁺	3.2 ± 3.7	4.3 ± 2.7	0.26
MPO (mcg/ml) ⁺	0.6 ± 0.3	1.2 ± 1.1	0.10

Los valores corresponden a frecuencias o a promedio ± desviación estándar

(a) Prueba t de Student no pareada, a menos que se especifique lo contrario

(b) Prueba exacta de Fisher

(c) Prueba exacta de Fisher comparando Leves vs Moderadas y Graves

⁺n = 7 para el Grupo I ⁺n = 8 para el Grupo II

*p < 0.05

Al realizar las comparaciones entre la medición basal y el día 7 en cada grupo, se apreció: Grupo I (sin glicina) existió diferencias significativas en el incremento de la saturación, PEF total y el % de su predicho. En cambio las cifras de marcadores de inflamación no tuvieron diferencias significativas a excepción de la HsCRP (p = 0.01) como se muestra en la tabla 2.

Tabla 2 Comparación del estado basal vs día 7 Grupo I sin glicina

VARIABLE	Basal (n = 10)	Día 7 (n = 10)	P ^(a)
SpO2 (%)	90.3 ± 4.1	97.0 ± 2.3	0.00*
PEF (L/min)	155.2 ± 49.9	220.8 ± 75.0	0.00*
PEF (% predicho)	58.3 ± 16.7	80.1 ± 14.6	0.00*
Leucocitos (células/mm ³)	8936 ± 2172.4	8295 ± 3244.7	0.47
Neutrófilos (células/mm ³)	5393 ± 2038.9	4970 ± 2759.8	0.26
Eosinófilos (células/mm ³)	811 ± 515.3	731 ± 395.2	0.31
Hs CRP (mg/dl)	0.5 ± 0.3	0.23 ± 0.18	0.01*
IL-8 (pg/ml) ⁺	79 ± 83	59.9 ± 56.9	0.08
TNF- α (pg/ml) ⁺	3.2 ± 3.7	5.1 ± 4.0	0.20

(a) Prueba t de Student pareada

*p < 0.05

⁺n = 7

En el Grupo II (con glicina), también hubo diferencias significativas en las variables de saturación y % del predicho con respecto al nivel basal como se muestra en la tabla 3. En relación a la biometría hemática, existió una caída significativa en las cifras de neutrófilos con un valor de p= 0.005, no así en las cifras de leucocitos totales y eosinófilos en donde no hubo diferencia significativa (p= 0.39 y 0.22 respectivamente).

Los marcadores de inflamación IL8 y MPO tuvieron disminución significativa (p = 0.02 y 0.01 respectivamente), sin cambios en el TNF α.

Tabla 3. Comparación entre el estado basal y el día 7 grupo II con glicina

VARIABLE	Basal (n = 10)	Día 7 (n = 10)	P ^(a)
SpO2 (%)	85.4 ± 10.7	96.3 ± 2.8	0.00*
PEF (L/min)	138.5 ± 66.3	202.5 ± 65.0	0.00*
PEF (% predicho)	55.9 ± 21	80.0 ± 13.0	0.00*
Leucocitos (células/mm ³)	10176 ± 3865.2	9128 ± 3542.9	0.20
Neutrófilos (células/mm ³)	7475 ± 4352.4	4132 ± 2200.7	0.005*
Eosinófilos (células/mm ³)	631 ± 392	817 ± 343	0.11
Hs CRP (mg/dl)	0.9 ± 1	0.20 ± 0.26	0.01*
IL-8 (pg/ml) ⁺	77.1 ± 83.5	38.0 ± 39.6	0.02*
TNFα (pg/ml) ⁺	4.3 ± 2.7	4.8 ± 5.2	0.77
MPO (mg/ml) ⁺	1.2 ± 1.1	0.52 ± 0.50	0.01*

(a) Prueba t de Student pareada

*p < 0.05

⁺n = 8

Al comparar el estado basal y al día 7 entre el grupo con y sin glicina, no se apreció ninguna diferencia significativa considerando los valores absolutos de las mediciones, como se puede apreciar en la tabla 4.

Tabla 4. Comparación entre ambos grupos al día 7

VARIABLE	Grupo I (n = 10)	Grupo II (n = 10)	p ^(a)
SpO2 (%)	97.0 ± 2.3	96.3 ± 2.8	0.27
PEF (L/min)	220.8 ± 75.0	202.5 ± 65.0	0.28
PEF (% predicho)	80.1 ± 14.6	80.0 ± 13.0	0.47
Leucocitos (células/mm ³)	8295 ± 3244.7	9128 ± 3542.9	0.45
Neutrófilos (células/mm ³)	4970 ± 2759.8	4132 ± 2200.7	0.23
Eosinófilos (células/mm ³)	731 ± 395.2	817 ± 343	0.31
HsCRP (mg/dl)	0.23 ± 0.18	0.20 ± 0.26	0.36
IL-8 (pg/ml) ⁺	59.9 ± 56.9	38.0 ± 39.6	0.20
TNF-α (pg/ml) ⁺	5.1 ± 4.0	4.8 ± 5.2	0.46
MPO (mcg/ml) ⁺	0.46 ± 0.3	0.52 ± 0.50	0.36

(a) Prueba t de Student pareada

⁺n = 7 para el Grupo I ⁺n = 8 para el Grupo II

*p < 0.05

Sin embargo, al evaluar algunas variables como porcentaje de cambio (tomando como 100% el valor basal) se encontró que al día 7 los neutrófilos, la IL8, mieloperoxidasa y la hs CRP habían tenido un descenso más importante en el grupo II en comparación con el grupo I (p < 0.05) tal como se observa en la tabla 5.

Tabla 5 Porcentaje de cambio al día 7 entre ambos grupos.

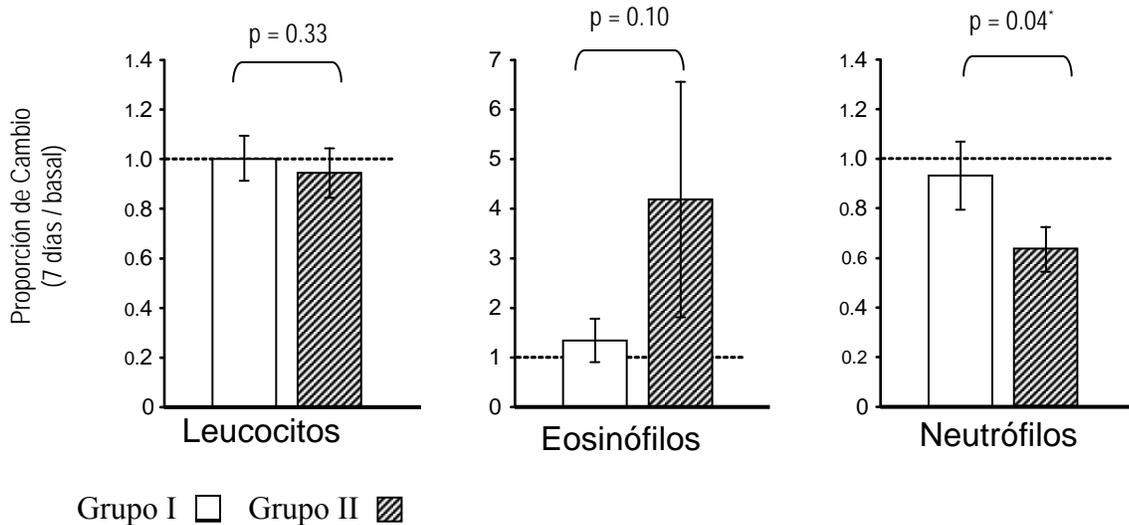
VARIABLE	Grupo I (n = 10)	Grupo II (n = 10)	p ^(a)
SpO2 (%)	1.07 ± 0.03	1.14 ± 0.15	0.09
PEF (L/min)	1.43 ± 0.37	1.69 ± 0.67	0.15
PEF (% predicho)	58.3 ± 16.7	80.1 ± 14.6	0.36
Leucocitos (células/mm ³)	1.00 ± 0.29	0.94 ± 0.32	0.33
Neutrófilos (células/mm ³)	0.93 ± 0.43	0.63 ± 0.29	0.04*
Eosinófilos (células/mm ³)	1.34 ± 1.35	4.19 ± 6.68	0.10
Hs CRP (mg/dl)	0.96 ± 1.34	0.227 ± 0.28	0.05*
IL-8 (pg/ml) ⁺	0.99 (0.60-2.90)	0.56 (0.17-7.75)	0.047*
TNF-a (pg/ml) ⁺	10.50 (0.02-20.08)	1.02 (0.02-7.74)	0.09

(a) T de Student no pareada excepto para IL8 y TNF en donde se uso U de Mann-Whitney por presencia de valores no detectables.

⁺n = 7 para el Grupo I ⁺n = 8 para el Grupo II *p < 0.05

Los valores corresponden a frecuencias o a promedio ± desviación estándar excepto para IL8 y TNF-a en donde se utilizo medianas (mínimo-máximo).

En la figura 1 se presenta el comportamiento de los leucocitos, eosinófilos y neutrófilos, graficando la proporción del cambio ocurrido al día 7 en ambos grupos, como se puede observar los neutrófilos disminuyeron en forma significativa en el grupo que recibió glicina.



De los pacientes que aceptaron participar en el estudio solo 2 ingresaron a hospitalización. Uno del grupo con glicina, secundario a status asmático, ameritando Terapia intensiva pediátrica 24 hs, y 7 días en piso, egresada por mejoría. Otro paciente del grupo sin glicina se hospitalizó por 3 días por persistencia de leve dificultad respiratoria y sibilancias, posteriormente se dio de alta sin complicaciones a su domicilio.

Previo al estudio se planeó analizar la variable tiempo de estancia hospitalaria, esto no fue posible debido que en urgencias, esta variable depende además de la mejoría del paciente, del horario en que es dado de alta, por lo que no reflejaría si una maniobra (glicina) era mejor que la otra (placebo).

No se informó de algún evento adverso o reacción secundaria en ninguno de los dos grupos, durante el seguimiento.

DISCUSION

En la fisiopatogenia del asma, la inflamación juega un papel predominante e involucra una orquestación compleja de células inflamatorias, mediadores químicos, y factores quimiotácticos. Múltiples estudios han demostrado la elevación de biomarcadores de inflamación en asma, principalmente en muestras obtenidas de procedimientos invasivos o seminvasivos como la fibrobroncoscopia con lavado broncoalveolar, o el esputo inducido de pacientes pediátricos y adultos; o la utilización de otras técnicas no invasivas como el condensado de aire exhalado o la medición de óxido nítrico exhalado^{15,16,53,54}. Desafortunadamente estas técnicas no son muy accesibles, principalmente en los niños, ya que las maniobra invasivas son difíciles de realizar en el paciente en estado asmático y las no invasivas requieren equipo y técnicas costosas.

En el presente estudio se buscó conocer si la administración de un aminoácido, la glicina, era capaz de producir una disminución de mediadores de inflamación en pacientes que cursaban con crisis asmática.

Al respecto, existen pocos estudios pediátricos que muestren la interrelación entre los marcadores de inflamación y la gravedad del asma, mucho menos en crisis asmática. Hughes y cols., encontraron que al analizar eosinófilos séricos, IL 5 y TNF α , la eosinofilia fue el único marcador de inflamación que se relacionó con la severidad clínica de asma en niños, aunque no realizó determinaciones durante crisis asmática.⁵⁵ Norzila y col. por su parte, encontraron en la expectoración de niños asmáticos la celularidad total, los eosinófilos, MPO y la IL-8 significativamente aumentados durante las crisis.¹⁶

La eosinofilia se ha reconocido como una característica del asma alérgica intrínseca, se relaciona con la actividad bronquial y con la modificación del volumen espiratorio forzado, demostrando ser un marcador útil de la reversibilidad de la obstrucción del flujo de aire al tratamiento con corticoesteroides en enfermedades obstructivas de la vía aérea⁵³. Apoyando lo anterior, en nuestro estudio se demostró eosinofilia basal en ambos grupos, persistente hasta el día 7 y sin cambios significativos intra o intergrupo, lo que indica que no hubo ningún efecto del aminoácido glicina en el número de estas células.

Existe evidencia de la participación de los neutrófilos en los procesos alérgicos incluyendo al asma. Estas células juegan una función importante en el sistema inmunológico, actuando como la primera línea de defensa contra infecciones bacterianas y fúngicas, e intervienen en la fagocitosis y la liberación de diversos mediadores que tienen efectos sobre la vía aérea de los pacientes asmáticos.¹⁵

En el presente estudio, no se detectó en el estado basal un incremento sérico de las cifras promedio de los neutrófilos en ambos grupos, sin embargo si se presentó una disminución significativa de los mismos en el grupo que recibió glicina. Este mismo comportamiento se apreció al comparar entre grupos el porcentaje de cambio al día 7.

Kamath et al. sugieren que la neutrofilia mas que la eosinofilia juega un papel predominante en las formas severas de asma, como la de nuestros pacientes que se encontraban en crisis asmática.¹⁸

Se ha postulado la posibilidad de que la neutrofilia sea la responsable de un fenotipo distinto en asma, ya que existen pacientes sin atopia y falta de respuesta a uso de esteroides inhalados.¹⁸ A este respecto, la literatura menciona que solo el 50% de los casos de asma se atribuyen a inflamación eosinofílica de la vía aérea, y el resto corresponde a inflamación neutrofilica, secundaria a exposición a contaminantes ambientales, endotoxinas bacterianas, e infecciones virales.⁵²

Después de la activación de los neutrófilos ocurre liberación de enzimas granulocíticas, entre ellas la de mieloperoxidasa. Su incremento se ha reportado en varios procesos patológicos y está asociada con un aumento del riesgo al estrés oxidativo, como en el caso de las enfermedades infecciosas e inflamatorias y la isquemia/reperfusión, aquí el aumento significativo de la actividad de MPO va en proporción directa al número de neutrófilos infiltrados en el tejido, su actividad es un índice de migración leucocitaria y, por lo tanto, de estrés oxidativo.⁵⁴

Monteseirín y cols. demostraron que los neutrófilos obtenidos de pacientes asmáticos alérgicos tenían un incremento en la liberación de MPO así como una relación inversa entre sus niveles y los valores de VEF 1⁵⁴.

En nuestro estudio se encontró que la MPO sérica fue detectada desde el estado basal en todos los pacientes, lo que significa que se encuentra elevada en crisis asmática presentando niveles mayores a lo reportado en la literatura en pacientes asmáticos⁵⁴ Si

bien, la disminución no fue significativa al comparar su valores totales entre ambos grupos, la caída de MPO al analizar el estado basal vs el día 7 en los niños que recibieron glicina, fue significativa. Este fenómeno se repitió al comparar entre grupos el porcentaje de cambio del estado basal vs el día 7, lo que parece indicar, junto con la disminución significativa de los neutrófilos una actividad antiinflamatoria del aminoácido glicina.

La IL-8 sérica ha sido utilizada como un marcador de inflamación de la enfermedad y de la eficacia al tratamiento del asma bronquial.²² Los valores de IL8 obtenidos en nuestros pacientes en condiciones basales estaban incrementados en ambos grupos (79 ± 83 GI vs 77.1 ± 83.5 GII pg/dl) lo que coincide con Tang y cols, quienes determinaron niveles séricos de IL- 8 entre 63.62 ± 11.41 pg/dl en pacientes con crisis asmática.²² Nuevamente, si bien no se demostró un cambio significativo entre grupos, los niveles de IL-8 de los niños que tomaron glicina, disminuyeron al día 7 y al comparar el porcentaje de cambio entre grupos, esta disminución si tuvo significancia.

El comportamiento de la HsCRP en nuestros pacientes fue muy similar a lo reportado en la literatura,^{24,25} mostrando cifras elevadas desde el estado basal y como es de esperarse, una caída significativa en ambos grupos una vez controlada la crisis (día 7). Sin embargo cabe señalar que la disminución fue del 54 % en el grupo sin glicina, mientras que la caída en el grupo que la recibió fue del 87.8%. ($p < 0.05$)

Existe controversia en relación al comportamiento de TNF α en asma. Esta citocina proinflamatoria ha sido implicada en su fisiopatología, ya que es un quimioatrayente de neutrófilos y eosinófilos en las células endoteliales; activa y libera otras citocinas; incrementa la expresión de moléculas de adhesión, jugando un papel importante en la migración de las células T y el desarrollo de hiperreactividad de la vía aérea, además produce un incremento en los neutrófilos in situ; a pesar de esta evidencia, su efecto aun no es claro.⁵⁶ Varios autores la han encontrado elevada en los pacientes asmáticos, sin embargo cuando se investiga su comportamiento en relación a la gravedad clínica del asma, se evidenció que no existe correlación entre la gravedad y los niveles de TNF sérico.⁵⁵ Los valores basales en nuestros pacientes en crisis asmática fueron menores a lo reportado por otros autores, sin embargo llama la atención que fueron detectables en el 100% de los pacientes, a diferencia de otros grupos en donde el porcentaje de detección ha sido hasta del 69% con esta evidencia solo podemos afirmar

que TNF α está presente, pero su papel en la fisiopatogenia y en la gravedad está por dilucidarse y que además sus niveles no se modifican con el uso de la glicina.

Una de las desventajas de nuestro estudio es que no se analizaron otras variables que pudieran ser confusoras como: tiempo de evolución del asma, ingesta de dieta ricas en glicina, parasitosis etc.

En el presente estudio los resultados preliminares alcanzan a detectar un mayor porcentaje de descenso en la mayoría de las variables analizadas, lo que podría apoyar la hipótesis elaborada, siendo imperativo completar el tamaño de muestra calculado.

CONCLUSIONES

La presente tesis es el reporte preliminar de este estudio

1) Existió una disminución mayor del 15% de los marcadores de inflamación IL-8, MPO y HsCRP, neutrófilos séricos, así como un incremento del 15% en la medición del flujo espiratorio máximo (PEF) a los 7 días comparado con los valores basales en ambos grupos.

2) El comportamiento antes y después en el grupo con glicina demostró una caída significativa de los valores séricos de: neutrófilos CPRHs, IL8 y MPO.

3) La comparación entre grupos del porcentaje de cambio entre el estado basal y 7 días después, mostró caída significativa de los mismos marcadores de inflamación en los niños que ingirieron glicina.

4) En el presente estudio la glicina administrada en pacientes pediátricos en crisis asmática mostró ser segura.

5) Si bien los resultados muestran una tendencia a disminuir los marcadores de inflamación en forma significativa en los pacientes que recibieron glicina, es necesario completar el tamaño de la muestra.

PROPUESTAS

Completar el número calculado de pacientes.

Definir si los marcadores de inflamación disminuyen significativamente en la población que recibió glicina.

De ser así, se propone realizar un estudio prospectivo en pacientes asmáticos de difícil control.

BIBLIOGRAFIA

1. Vargas Becerra MH. Epidemiología del asma. *Neumología y cirugía de tórax* 2009; 68 (s2): 91-97.
2. Lasley MV. The child with asthma. En *Current Clinical Practice: Allergic Diseases: Diagnosis and Treatment*, 3th Ed. Edited by: P. Lieberman and J. A. Anderson © Humana Press, Totowa, NJ: 83-105.
3. Vargas MH, Díaz-Mejía GS, Furuya ME, Salas J, Lugo A. Trends of asthma in Mexico: an 11-year analysis in a nationwide institution. *Chest* 2004;125:1993-7.
4. Chedevergne F, Le Bourgeois M, de Blic J, Scheinmann P. The role of inflammation in childhood asthma. *Arch Dis Child* 2000;82 Suppl 2:II6-9.
5. Bradding P, Walls AF, Holgate ST. The role of the mast cell in the pathophysiology of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:1277-84.
6. Holgate ST. The airway epithelium is central to the pathogenesis of asthma. *Allergol Int* 2008;57:1-10.
7. Wang Y, Bai C, Li K, Adler KB, Wang X. Role of airway epithelial cells in development of asthma and allergic rhinitis. *Respir Med* 2008 (en prensa); doi:10.1016/j.rmed.2008.01.017.
8. Wark PA, Gibson PG. Asthma exacerbations. 3: Pathogenesis. *Thorax*. 2006;61:909-15.
9. Murray CS, Simpson A, Custovic A. Allergens, viruses, and asthma exacerbations. *Proc Am Thorac Soc* 2004;1:99-104.
10. Crimi E, Spanevello A, Neri M, Ind PW, Rossi GA, Brusasco V. Dissociation between airway inflammation and airway hyperresponsiveness in allergic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157:4-9.
11. Virchow JC Jr, Kroegel C, Walker C, Matthys H. Cellular and immunological markers of allergic and intrinsic bronchial asthma. *Lung* 1994; 172:313-34.
12. Hargreave FE. Quantitative sputum cell counts as a marker of airway inflammation in clinical practice. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2007; 7:102-6.
13. Koh GC, Shek LP, Goh DY, Van Bever H, Koh DS. Eosinophil cationic protein: is it useful in asthma? A systematic review. *Respir Med* 2007; 101:696-705.
14. Parameswaran K, Hargreave FE. The use of sputum cell counts to evaluate asthma medications. *Br J Clin Pharmacol* 2001; 52:121-8.
15. McDougall CM, Helms PJ. Neutrophil airway inflammation in childhood asthma. *Thorax* 2006; 61:739-741.
16. Norzila MZ, Fakes K, Henry RL, Simpson J, Gibson PG. Interleukin-8 secretion and neutrophil recruitment accompanies induced sputum eosinophil activation in children with acute asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161:769-74.
17. Borregaard N, Cowland JB. Granules of the human neutrophilic polymorphonuclear leukocyte. *Blood* 1997; 89:3503-21.
18. Kamath AV, Pavord ID, Ruparelia PR, y col. Is the neutrophil the key effector cell in severe asthma? *Thorax* 2005; 60:529-30.
19. Ordonez CL, Shaughnessy TE, Matthay MA, y col. Increased neutrophil numbers and IL-8 levels in airway secretions in acute severe asthma: clinical and biologic significance. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161:1185-90.

20. Lee A, Whyte MK, Haslett C. Inhibition of apoptosis and prolongation of neutrophil functional longevity by inflammatory mediators. *J Leukoc Biol* 1993;54:283–8.
21. Cox G. Glucocorticoid treatment inhibits apoptosis in human neutrophils. Separation of survival and activation outcomes. *J Immunol* 1995; 154:4719–25.
22. Tang RB, Chen SJ. Evaluation of serum interleukin-8 as a marker of disease activity in acute asthma in children. *J Asthma* 2000; 37:409-13.
23. Mann BS, Chung RL, Tang RB. Serum interleukin-5 measurements for monitoring acute asthma in children. *J Asthma*. 2005; 42:297-300.
24. Fujita M, Ueki S, Ito W, y col. C-reactive protein levels in the serum of asthmatic patients. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2007; 99:48-53.
25. Soferman R, Glatstein M, Sivan Y, Weisman Y. HsCRP levels: measurement of airway inflammation in asthmatic children. *Pediatr Int* 2008; 50:12-6.
26. Wheeler MD, Ikejima K, Enomoto N, y col. Glycine; a new anti-inflammatory immunonutrient. *Cell Mol Life Sci* 1999; 56:843-56.
27. Zhong Z, Wheeler MD, Li X, Froh M, Schemmer P, Yin M, et al. L-Glycine: a novel antiinflammatory, immunomodulatory, and cytoprotective agent. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2003, 6:229-240.
28. Wheeler MD, Thurman RG. Production of superoxide and TNF- α from alveolar macrophages is blunted by glycine. *Am J Physiol* 1999; 277:L952-L959.
29. Spittler A, Reissner CM, Oehler JR, y col. Immunomodulatory effects of glycine on LPS-treated monocytes: reduced TNF- α production and accelerated IL-10 expression. *FASEB J* 1999; 13: 563–71.
30. Ikejima K, Iimuro Y, Forman D, Thurman RG. A diet containing glycine improves survival in endotoxin shock in the rat. *Am J Physiol* 1996; 271:G97-G103.
31. Wheeler MD, Rose ML, Yamashima S, y col. Dietary glycine blunts lung inflammatory cell influx following acute endotoxin. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000; 279:L390-L398.
32. Omasa M, Fukuse T, Toyokuni S, y col. Glycine ameliorates lung reperfusion injury after cold preservation in an ex vivo rat lung model. *Transplantation* 2003; 75:591-8.
33. Iijima S, Shou J, Naama H, Calvano SE, Daly JM. Beneficial effect of enteral glycine in intestinal ischemia/reperfusion injury. *J Gastrointest Surg* 1997; 1:53-60
34. Jaeschke H, Smith CW. Mechanisms of neutrophil-induced parenchymal cell injury. *J Leukoc Biol* 1997; 61:647-53.
35. Zhong Z, Arteel G E, Connor H, y col. Cyclosporin A increases hypoxia and free radical production in the rat kidney: prevention by dietary glycine. *Am J Physiol* 1998; 275:F595–F604.
36. Yang S, Koo DJ, Chaudry, IH, Wang P. Glycine attenuates hepatocellular depression during early sepsis and reduces sepsis-induced mortality. *Crit Care Med* 2001; 29: 1201-6.
37. Garcia R, Sanchez F, Almanza JC y col. Glycine increases mRNA adiponectin and diminishes pro-inflammatory adipokines expression in 3T3-L1 cells. *European Journal of Pharmacology* 587 (2008) 317–321

38. Nesbit RM, Glickman SI. The use of glycine solution as irrigating medium during transurethral resection. *J Urol* 1948; 59:121-6.
39. New and nonofficial remedies. *J Am Med Assoc* 1935; 104:1241.
40. Carvajal G, Juárez E, Ramos G, Carvajal ME. Inhibición de la glicosilación no enzimática de la hemoglobina en la diabetes mellitus. *Rev Inst Nal Enf Resp* 1995; 8:185-188.
41. Khan M, Van Der Wieken LR, Riezebos RK, y col. 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 Cardiac Care* 2006;8:58-64.
42. Heresco-Levy U, Javitt D, Ermilov M, Mordel C, Silipo G, Lichtenstein M. Efficacy of high-dose glycine in the treatment of enduring negative symptoms of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 1999; 56:29-36.
43. Heresco-Levy U, Javitt D, Ermilov M, Mordel C, Horowitz A, Kelly D. Double-blind, placebo-controlled, crossover trial of glycine adjuvant therapy for treatment-resistant schizophrenia. *Brit J Psychiatry* 1996; 169:34-7.
44. Fries MH, Rinaldo P, Schmidt-Sommerfeld E, Jurecki E, Packman S. Isovaleric acidemia: response to a leucine load after three weeks of supplementation with glycine, L-carnitine, and combined glycine-carnitine therapy. *J Pediatr* 1996; 29:449-52.
45. File SE, Fluck E, Fernandes C. Beneficial effects of glycine (bioglycin) on memory and attention in young and middle-aged adults. *J Clin Psychopharmacol* 1999; 9:506-12.
46. Gusev EI, Skvortsova VI, Dambinova SA, Raevskiy KS, Alekseev AA, Bashkatova VG y col. Neuroprotective effects of glycine for therapy of acute ischaemic stroke *Cerebrovasc Dis* 2000; 10:49-60.
47. Luntz SP, Unnebrink K, Seibert-Grafe M, Bunzendahl H, Kraus TW, Büchler MW y col.. HEGPOL: randomized, placebo controlled, multicenter, double-blind clinical trial to investigate hepatoprotective effects of glycine in the postoperative phase of liver transplantation [ISRCTN69350312]. *BMC Surg.* 2005; 17:5-18.
48. Fogarty A, Broadfield S, Lewis S, Lawson N, Britton J. Amino acids and asthma: a case-control study. *Eur Respir J* 2004; 23:565–8.
49. Rahman I, MacNee W. Oxidative stress and regulation of glutathione in lung inflammation. *Eur Respir J* 2000; 16:534–54.
50. Anónimo. Glicina. Disponible en la URL <http://healthlibrary.epnet.com/GetContent.aspx?asptoken=0d429707-b7e1-41479947-abca6797a602&chunkiid=125018>. Accesado el 3 de Julio de 2008.
51. GINA: 2006: Guía para el tratamiento y prevención del asma. Grupo de Trabajo: Fecha: 24/4/2007. Versión del año 2006 de la Guía para el manejo médico del asma, tanto en niños como en adultos, emitida por la Global Initiative for Asthma <http://www.seicap.es/documentos/archivos/GINA2006guiapediatricaspanish.pdf> accesado en mayo 2008.
52. Douwes J, Gibson P, Pekkanen J, Pearce N. Non-eosinophilic asthma: importance and possible mechanisms. *Thorax* 2002;57:643–648
53. Picó M, Ruiz M, Picó T, García M. Marcadores biológicos para el diagnóstico y tratamiento del asma bronquial. *Rev Cubana Med* 1999;38(1):24-34

54. Monteseirin J, Bonilla I, Camacho J, Conde J, Sobrino F. Elevated secretion of myeloperoxidase by neutrophils from asthmatic patients: the effect of immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107: 623-626.
55. Hughes M, Rimmer J, Salome M, Hodge L, Liu-Brennan D, Woolcock A, Armour C. Eosinophilia, interleukin-5, and tumour necrosis factor-alpha in asthmatic children. *Allergy* 2001; 56: 412-418
56. Berry M, Brightling C, Pavord, Wardlaw A. TNF-a in asthma. *Current Opinion in Pharmacology* 2007, 7:279-282

ANEXOS

ANEXO 1

MANEJO DE ASMA AGUDIZADA MEDIANTE TRATAMIENTO EN URGENCIAS Y HOSPITALARIO		
Evaluación inicial Historial (Hx), exploración física (EF) (auscultación, uso de músculos accesorios, frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, flujo espiratorio máximo [PEF] o volumen espiratorio forzado al segundo [FEV ₁], saturación de oxígeno, gases arteriales en pacientes muy graves, otras pruebas si son necesarias.		
Tratamiento inicial Agonistas β ₂ inhalados de acción corta y rápida, habitualmente nebulizados, una dosis cada 20 minutos durante una hora. Oxígeno para conseguir un nivel de saturación de O ₂ > 90% (> 95% en niños). Corticoides sistémicos si no hay respuesta inmediata o el paciente ha tomado recientemente corticoides orales en comprimidos o jarabe o si el ataque es grave. La sedación está contraindicada en el tratamiento de los ataques de asma.		
	Repita la evaluación en 1 hr Exploración física, PEF, saturación de O ₂ , otras pruebas en caso necesario.	
Episodio moderado PEF 60-80% del previsto/mejor valor personal. EF: síntomas moderados, uso de músculos accesorios. Agonista β ₂ inhalado cada 60 minutos. Considerar el uso de corticoides. Continuar el tratamiento durante 1-3 horas, siempre que haya mejoría.		Episodio grave PEF < 60% del previsto/mejor valor personal. EF: síntomas graves en reposo, retracción torácica. Hx: paciente de alto riesgo. Ausencia de mejoría tras el tratamiento inicial. Oxígeno. Corticoide sistémico. Considerar el uso de agonista β ₂ y anticolinérgico inhalado o Mg intravenoso.
Alta y regreso al domicilio Continuar el tratamiento con el agonista β ₂ inhalado. En la mayoría de los casos, considerar el uso de corticoide en comprimidos o jarabe. Educación del paciente: Empleo correcto del medicamento. Revisión del plan de actuación. Seguimiento médico estrecho.	Ingreso hospitalario Agonista β ₂ inhalado ± anticolinérgico inhalado. Corticoide sistémico. Oxígeno. Considerar uso de aminofilina intravenosa. Controlar PEF, saturación de O ₂ , pulso y teofilina.	Ingreso a Unidad de Cuidados Intensivos Agonista β ₂ inhalado ± anticolinérgico. Corticoide inhalado. Oxígeno. Considerar el uso de aminofilina intravenosa. Posible intubación y ventilación mecánica.
	Mejoría Sin mejoría 	
Alta y regreso al domicilio Si el PEF es > 60% del previsto/mejor valor personal y se mantiene con medicación en comprimidos o jarabe o inhalada.		Ingreso a la Unidad de Cuidados Intensivos Si no hay mejoría en 6-12 horas.

ANEXO 2

CLASIFICACION DE LA GRAVEDAD DE LA CRISIS ASMÁTICA

Parámetro	Leve	Moderada	Grave	Inminente paro respiratorio
Disnea	Al andar. Puede estar acostado.	Al hablar. En el lactante: llanto más suave y corto; dificultad para alimentarse. Prefiere estar sentado	En reposo. En el lactante: deja de alimentarse. Encorvado hacia delante.	
Habla en	Sentencias.	Frasas cortas.	Palabras sueltas.	
Estado de conciencia	Puede estar agitado.	Habitualmente agitado.	Habitualmente agitado.	Adormilado o confuso.
Frecuencia respiratoria	Aumentada.	Aumentada.	A menudo > 30/min	
	Frecuencia respiratoria normal según edad <2 meses, <60/min; 2-12 meses, <50/min; 1-5 años, <40/min; 6-8 años, <30/min			
Uso de músculos accesorios y retracción supraesternal	Habitualmente no.	Habitual.	Habitual.	Movimiento toracoabdominal paradójico.
Sibilancias	Moderadas, a menudo al final de la espiración.	Fuertes.	Habitualmente fuertes.	Ausentes.
Pulso/min	<100.	100-120.	>120.	Bradycardia.
	Guía para determinar los límites normales de pulso normal en niños: 2-12 meses, <160/min; 1-2 años, <120/min; 2-8 años, <110/min			
PEF después de broncodilatador, % del previsto o % del mejor valor personal	> 80%	60 – 80%	< 60% del previsto o del mejor valor personal.	
PaO ₂ (con aire ambiental)	Normal.	> 60 mmHg.	< 60 mmHg. Posible cianosis.	
PaCO ₂	<45 mmHg.	<45 mmHg	>45 mmHg.	
SaO ₂	> 95%	91 – 95%	< 90%	
La presencia de varios parámetros y no necesariamente de todos, indica la clasificación general del ataque. PEF=flujo espiratorio máximo.				

**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

México DF, a ___ de _____ de 2009

Por medio de la presente autorizamos que nuestro hijo(a) _____ participe en el proyecto de investigación titulado “*Estudio clínico controlado para evaluar la capacidad de la glicina por vía oral para disminuir la inflamación de las vías aéreas durante una crisis asmática en niños*”, que ya fue registrado ante la Comisión Nacional de Investigación Científica del IMSS.

El objetivo del estudio es conocer si un suplemento de glicina (una sustancia que forma parte de las proteínas que están incluidas en nuestra dieta normal) puede ayudar a desinflamar las vías aéreas de niños que tienen una crisis asmática.

Se nos ha explicado que la participación de nuestro hijo(a) consistirá en que, además de recibir el tratamiento habitual para la crisis de asma, comenzará a tomar dos veces al día un suplemento de glicina (que es un polvo blanco que se disolverá en un vaso con jugo de uva). Entendemos que este suplemento comenzará a recibirlo aquí en Urgencias, pero que aunque sea dado de alta deberá tomarlo dos veces al día hasta completar 6 días seguidos. Se nos explicó que para que el estudio tenga más calidad científica habrá un grupo de niños que en realidad no tomarán glicina, sino que sólo tomarán el agua con jugo de uva, y que los investigadores realizarán un sorteo para decidir si a nuestro hijo(a) le toca tomar glicina o sólo el agua de uva. Al momento del ingreso al estudio y en el día 7, a nuestro hijo(a), al igual que a todos los niños que entren al estudio, se le tomará una muestra de sangre de 10 ml, además se le pedirá que sople en unos aparatos, para que se mida qué tan obstruidas e inflamadas están sus vías respiratorias.

Se nos ha asegurado que el suplemento dietético glicina se usa como complemento dietético para otras enfermedades y que hasta ahora no ha causado ningún efecto que dañe la salud de nuestro hijo(a).

Declaramos que se nos ha informado ampliamente sobre los posibles riesgos, inconvenientes, molestias y beneficios derivados de la participación de nuestro hijo en el estudio. Los efectos indeseables de la glicina que se han reportado rara vez son: náusea, vómito y malestar en el estómago. Se nos ha explicado que en cualquier momento podremos acudir a los investigadores para resolver dudas e inquietudes (Dra. María Teresa Valdovinos o Dra. María Elena Yuriko Furuya Meguro), o podremos contactarnos con el Comité de Ética en caso de tener cualquier duda respecto a los derechos de mi hijo(a) como participante en este estudio (55780925 ext 21210, de lunes a viernes, de 8:00 a 16:00 hs).

Los investigadores responsables se han comprometido a aclarar cualquier duda que tengamos sobre los procedimientos que se llevarán a cabo, los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación o con el tratamiento de nuestro hijo(a).

Hemos sido informados de que la participación en el estudio es voluntaria y podemos retirar a nuestro hijo(a) en cualquier momento, incluso aunque ya hayamos firmado esta carta, y sin que esto repercuta en la atención médica que recibimos del IMSS. De la misma manera, se nos ha ofrecido que la información derivada del estudio será confidencial.

Entendemos que por el momento nuestro hijo(a) tal vez no tenga ningún beneficio directo de este estudio, pero que si los resultados finales son como se esperan, se podría contar con una nueva sustancia que disminuya la inflamación de las vías aéreas durante las crisis de asma.

A t e n t a m e n t e.

Nombre y firma del Padre

(Testigo)

Nombre y firma de la Madre

(Testigo)

Investigador principal

Dra. María Elena Yuriko Furuya Meguro
Unidad de Investigación Médica en Enfermedades
Respiratorias, Hospital de Pediatría. CMN SXXI.
Tel. 55780925 ext 22288

Investigador Asociado

Dra. María Teresa Valdovinos
Urgencias. HRG No 1
Tel. celular 445554314325

ANEXO 4



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

CARTA DE ASENTIMIENTO

México DF, a ___ de _____ de 2008

Nuestros nombres son Dra. María Elena Yuriko Furuya Meguro, Dra. María Teresa Valdovinos y Dr. Christian Nava. Trabajamos atendiendo niños e investigamos como tratar sus enfermedades.

Estamos invitando a tus papas a que tú participes en un estudio de investigación. Su título es *“Estudio clínico controlado para evaluar la capacidad de la glicina por vía oral para disminuir la inflamación de las vías aéreas durante una crisis asmática en niños”*.

Este estudio consiste en que además de darte tu tratamiento de urgencias, probaremos si un complemento alimenticio que se llama **glicina** diluida en agua de uva, mejora más rápido a los niños con crisis asmática que vienen a urgencias porque les falta el aire y les chifla el pecho como a ti.

Haremos una rifa para que a unos niños les demos un vaso diario de agua de uva con la glicina y a otros les demos un vaso de agua de uva con azúcar durante 6 días. Esto no te pone en peligro, pero debes comprometerte a tomar el vaso de agua de uva cuando te lo den tus papas. Debes avisarles si tienes alguna molestia como náusea, vómito o dolor de estómago o cualquier otra molestia para que ellos nos localicen.

Analizaremos tu sangre y soplaras en unos aparatos en 3 ocasiones: el día que llegues, el día que salgas de urgencias y al 7 día.

“Se que puedo estar de acuerdo en participar en este estudio, y se que puedo retirarme cuando quiera. Entiendo la información que me dieron y se que puedo preguntar lo que quiera.”

Yo _____ estoy de acuerdo en participar en este estudio.

Firma

ANEXO 5

Informe de eventos (efectos /reacciones) adversos presentados en pacientes incluidos en protocolos de investigación

México, D.F. a _____ de _____ de _____

El que suscribe _____
(Nombre del Investigador responsable)

En calidad de INVESTIGADOR RESPONSABLE del protocolo de investigación titulado:

Número de Registro IMSS _____

Fecha de autorización _____

Lugar en donde se realiza _____
(Nombre de la Unidad de Atención Médica)

Informo que he revisado cada uno de los eventos (efectos/reacciones) adversos que se han presentado en los pacientes que he incluido al protocolo de investigación y que ha continuación describo:

Fecha	No. de caso	Descripción de la reacción	Desenlace	Clasificación de la sospecha cierta o probable	Tipo de reporte inicial/seguimiento

Favor de marcar con una X una de las dos opciones y de ser la segunda explicar el o los motivos:

Después de efectuar un análisis de los mismos, declaro que ninguno de los efectos adversos descritos previamente obliga a suspender o cancelar el protocolo de investigación.

Se ha suspendido el protocolo de investigación por los siguientes motivos:

Nombre y firma del Investigador responsable



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS
UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN Y POLÍTICAS DE SALUD
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD
"2008, Año de la Educación Física y el Deporte"

COMISIÓN NACIONAL DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA

Ref. 09-B5-61-2800/200800 1548

Septiembre 05, 2008

DRA. MARIA ELENA YURIKO FURUYA MEGURO

Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Respiratorias
UMAE Hospital de Pediatría
Centro Médico Nacional, Siglo XXI
México, D. F.

Informo a usted que el protocolo titulado: *"Estudio clínico controlado para evaluar la capacidad de la glicina por vía oral para disminuir la inflamación de las vías aéreas durante una crisis asmática en niños"* fue sometido a la consideración de esta Comisión Nacional de Investigación Científica.

Los procedimientos propuestos en el protocolo cumplen con los requerimientos de las normas éticas vigentes y la carta de consentimiento informado es suficientemente explícita, por lo cual tengo el agrado de hacerle saber que con base en las opiniones de los vocales de esta Comisión, se ha emitido dictamen de **AUTORIZADO**, con número de registro: **2008-785-039**.

De acuerdo a la normatividad institucional vigente, deberá informar a esta Comisión en los meses de junio y diciembre de cada año, acerca del desarrollo del proyecto a su cargo.

Atentamente

DOCTOR CÉSAR A. CRUZ SANTIAGO
Presidente
Comisión Nacional de Investigación Científica

Con Copia:

- Doctor Hermilo de la Cruz Yañez, Director de la Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI
- Doctor Miguel Ángel Villasís Keever, Director de Educación e Investigación en Salud, Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI

JCTP:ign
E-2008-057

IMSS

SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

4° piso Bloque "B" de la Unidad de Congresos Av. Cuauhtémoc 330 Col. Doctores México 06720