

Revisión

La glicina: un nutriente antioxidante protector celular

B. Matilla**, J. L. Mauriz*, J. M. Culebras**, J. González-Gallego* y P. González*

* Departamento de Fisiología. Universidad de León. ** Hospital de León. España.

Glycine: a cell-protecting anti-oxidant nutrient

Resumen

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

(Nutr Hosp 2002, 17:2-9)

Palabras clave: Antioxidantes. Citoquinas. Factor de transcripción kappa B. Glicina. Óxido nítrico. Shock hemorrágico.

Introducción

En los últimos años se está estudiando el papel que puede tener el daño oxidativo en la patogenia de numerosas enfermedades, así como el posible valor de la terapéutica antioxidante. En algunos casos, el daño oxidativo interviene de una manera primaria en el origen de la enfermedad. En otros casos se trata de un fenómeno secundario, pero puede tener un papel importante en la evolución de la enfermedad.

Los micronutrientes con acción antioxidante, como las vitaminas E y C o el β -caroteno, han sido las sus-

GLYCINE: A CELL-PROTECTING ANTI-OXIDANT NUTRIENT

Abstract

For many researchers it is still difficult to accept that beneficial effects can be obtained in several disease states with the simplest amino acid, glycine. However, evidence is mounting in favour of this idea. It is now clear that dietary glycine protects against shock caused either by blood loss or endotoxin, reduces alcohol levels in the stomach and improves recovery from alcoholic hepatitis, diminishes liver injury caused by hepatotoxic drugs and blocks programmed cell death and reduces the nephrotoxicity caused by the drug cyclosporin A in the kidney, preventing hypoxia and free radical formation. It could be also useful in other inflammatory diseases since it diminishes cytokines production. We review some of the beneficial effects of glycine and their responsible mechanism, which could lead to advice its use in the therapy of different diseases.

(Nutr Hosp 2002, 17:2-9)

Key words: Antioxidants. Cytokines. Glycine. Hemorrhagic shock. Nitric oxide. Transcription factor kappa B.

tancias clásicamente empleadas como terapéutica antioxidante, si bien se han descrito otras muchas sustancias entre las que destacan las enzimas antioxidantes (superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa), el glutatión, la N-acetil cisteína, la S-adenosil metionina y otros. En la década de los 90 se ha investigado el efecto beneficioso del aminoácido glicina. Este efecto no es compartido por otros aminoácidos tales como valina y alanina¹.

El objetivo principal de este artículo es ofrecer una revisión de algunos de los efectos beneficiosos de la glicina que podrían llevar a proponer su inclusión como suplemento dietético tanto en nutrición enteral como parenteral.

Funciones generales

Las funciones de la glicina se deben a su pequeño tamaño y a la falta de una cadena lateral significativa,

Correspondencia: Paquita González Sevilla.
 Departamento de Fisiología.
 Universidad de León. 24071 León.
 Correo electrónico: dfmings@unileon.es

Recibido: 25-VI-2001.
 Aceptado: 15-VIII-2001.

que podría afectar a las características físicas de este aminoácido por impartir carga, hidrofobicidad u otras limitaciones estructurales. Estas propiedades permiten a la glicina desempeñar un papel importante en la estructura de ciertas proteínas y actuar en varias funciones celulares como un modificador biológico.

Los residuos de glicina pueden acomodarse en el interior hidrofóbico de las proteínas; esto le confiere flexibilidad en el pliegue de las proteínas con tendencia a formar hélices y permite versatilidad en la estructura de los receptores². Péptidos con secuencias repetidas de glicina están ampliamente distribuidos en la naturaleza y están presentes en las queratinas y proteínas filamentosas como las laminillas nucleares³. El colágeno es rico en moléculas de glicina y ahora se sabe que la sustitución de un solo residuo de glicina por otro residuo dentro de la molécula de colágeno es la base de algunas enfermedades hereditarias como el síndrome Ehlers-Danlos tipo IV⁴, la osteogénesis imperfecta⁵ y la epidermólisis bulbosa pruriginosa⁶.

La actividad biológica de algunas moléculas puede ser alterada por la adición o eliminación de un residuo de glicina. La conjugación con glicina es un importante mecanismo de detoxificación. Por ejemplo el retraso en el desarrollo de glicina N-acetiltransferasa en niños puede afectar a la detoxificación de varios fármacos y xenobióticos⁷. La conjugación con glicina es también un importante proceso fisiológico, y la unión a ácidos biliares permite su paso a través de las membranas celulares⁸. La α -amidación peptídica es necesaria para liberar algunas hormonas de sus precursores ricos en residuos de glicina. Este proceso postrasduccional terminal es esencial para la activación biológica de muchas hormonas peptídicas, tales como gastrina y neuropeptidos^{9,10}.

La glicina es un osmoprotector contra estrés originado por altas temperaturas, desecación y medios ambientales concentrados en urea. Por ejemplo, la acumulación de glicina betaína parece ser un mecanismo por el que *Escherichia coli* puede adaptarse a fuerzas osmóticas externas y crecer en orina hipertónica¹¹.

La glicina como molécula de comunicación extracelular

Los canales iónicos son poros proteicos dentro de la membrana celular que transfieren iones a lo largo de un gradiente electroquímico. Están ampliamente distribuidos y tienen un papel clave en el mantenimiento de la integridad celular¹². Sus funciones fisiológicas incluyen: regulación del volumen celular, estabilización del potencial de membrana, transducción de señales, transporte transepitelial y acidificación de orgánulos intracelulares¹³. Los canales iónicos están regulados por estímulos tales como el ión calcio, AMPc, pH, ligandos extracelulares y voltaje transmembrana.

Los canales iónicos de apertura rápida regulados por ligando constituyen una superfamilia génica que

incluye nicotín acetil colina, ácido γ -aminobutírico y receptores de glicina¹⁴. El receptor de glicina es un complejo pentamérico que forma un canal transmembrana selectivo de cloro que se expresa predominantemente en la médula espinal y cerebro¹⁵. En dichas regiones la glicina actúa como un neurotransmisor inhibitorio. En este contexto, mutaciones génicas en las subunidades α y β del receptor de glicina originan desórdenes motores hereditarios¹⁶ y la flacidez del shock espinal está asociado con una concentración local alta de glicina¹⁷.

Receptores de la glicina

La glicina ejerce su acción inhibitoria por unión a su receptor que está ampliamente localizado en las membranas neuronales postsinápticas¹⁸. La señal inhibitoria postsináptica bloquea la acción despolarizadora de la neurotransmisión por incremento de la permeabilidad al Cl^- a través de la membrana neuronal postsináptica. La identidad de la glicina como un neurotransmisor inhibitorio fue originalmente propuesta por Aprison y cols.¹⁹ y Davidoff y cols.²⁰, que describieron en detalle la distribución de la glicina a través del sistema nervioso central. Estudios autorradiográficos con glicina marcada demostraron que la glicina se localiza en las regiones sinápticas en la médula espinal²¹. Estudios funcionales posteriores demostraron que la glicina hiperpolariza las neuronas motoras postsinápticas por incremento de la conductancia al cloro²²⁻²⁴; así, el receptor de la glicina es a menudo referido como un canal de cloro unido o sensible a glicina. Esta inhibición puede ser bloqueada selectivamente por la estriquina, lo que ha permitido la posterior caracterización de la acción de la glicina en el SNC²⁵⁻²⁶. Con el uso de estriquina de alta afinidad, se ha purificado el receptor de la glicina, la composición de las subunidades y los lugares de unión del receptor y se ha identificado la secuencia de aminoácidos de muchas de las subunidades¹⁵.

Igualmente se ha demostrado que una amplia variedad de células involucradas en la inflamación (células de Kupffer, macrófagos alveolares y neutrófilos) también contienen canales de cloro sensibles a glicina²⁷⁻²⁸. La glicina provoca por hiperpolarización de la membrana plasmática de leucocitos una menor sensibilidad a los estímulos inflamatorios tales como endotoxinas y posiblemente a una amplia variedad de factores de crecimiento.

El canal de la glicina está compuesto de tres subunidades distintas proteicas: una de 48 kDa llamada subunidad α ; una subunidad β de 58 kDa, y una subunidad citoplasmática de anclaje (gefirina) de 93 kDa²⁹⁻³⁰. Se han identificado y clonado tres isoformas diferentes de la subunidad α en ratas y homólogos de las subunidades $\alpha 1$, $\alpha 2$ y β en médula espinal de humanos y ratones³¹⁻³⁶. Recientemente, una cuarta subunidad α ha sido identificada por Matzenbach y cols.³⁷. El receptor de la glicina está compuesto por 5 subunidades, for-

madras de subunidades α o la combinación de subunidades α y β que constituyen un complejo pentamérico el cual penetra la membrana celular. La región citoplasmática de la subunidad β se encuentra formando un complejo con la proteína de anclaje gefirina. Las propiedades funcionales del receptor de la glicina están relacionadas con la composición de las subunidades del pentámero completo.

La glicina al activar los canales de cloro sensibles a este aminoácido de la membrana plasmática de las células de Kupffer y otras células de la serie blanca origina un influjo de iones cloro conduciendo a la hiperpolarización de la membrana. Con la producción de estímulos externos tales como endotoxinas, se produce un influjo dependiente de voltaje de calcio libre extracelular a través de canales dependientes de voltaje. Este incremento en el calcio intracelular es impedido debido al estado de hiperpolarización de la membrana plasmática creado por la interacción de la glicina con su receptor. De esta manera se bloquea la producción de señales intracelulares y la producción de citoquinas que son dependientes del incremento del calcio intracelular, lo que previene la cascada de producción de citoquinas inflamatorias que sigue a la activación de las células de Kupffer y otros tipos de células sanguíneas que contengan este tipo de receptor³⁸ (figura 1).

La glicina como antioxidante

Datos obtenidos por nosotros y por otros investigadores apuntan a la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO) en condiciones de hipoxia, como el

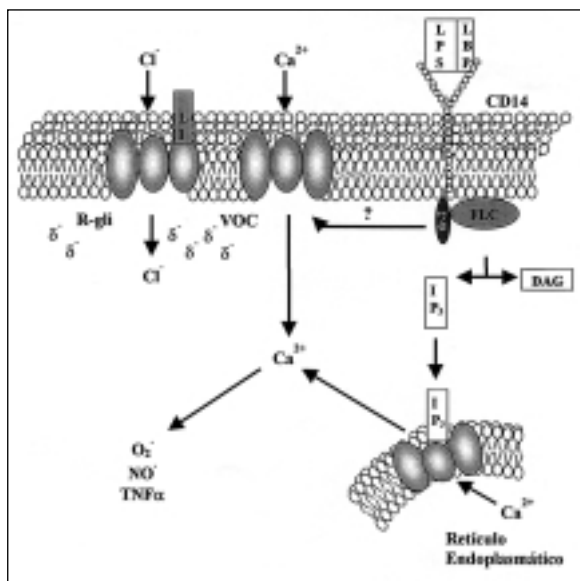


Fig. 1.—Supuesto mecanismo de acción celular de la glicina. (DAG: diacilglicerol; CD14: Receptor; FLC: fosfolipasa; IP3: inositol 1,4,5-trifosfato; LBP: proteína de unión al lipopolisacárido; LPS: lipopolisacárido; R-gli: receptor de glicina; tlr-2: receptor transmembrana unido al CD14; TNF α : factor de necrosis tumoral alfa; VOC: canal de calcio dependiente de voltaje).

motor desencadenante de toda una serie de alteraciones originadas tras los procesos de hemorragia y resucitación. El estrés oxidativo puede afectar a la integridad celular sólo cuando los mecanismos antioxidantes no son capaces de superar la generación de radicales libres. Dicho estrés induce un incremento en la permeabilidad y un descenso en el potencial de membrana³⁹.

El shock hemorrágico y la posterior reinfusión producen cambios críticos en varios órganos con la generación de radicales libres de oxígeno. Determinando la concentración de productos de reacción del ácido tiobarbitúrico (TBARS), como marcador de estrés oxidativo, se ha observado un incremento significativo en pulmón, riñón e hígado, pero no en cerebro o corazón, probablemente porque los primeros son fácilmente dañados por los procesos de isquemia/reinfusión, siendo el cerebro y el corazón más resistentes a este proceso⁴⁰.

En un trabajo realizado por nuestro equipo con 3 grupos de ratas: controles que recibieron una dieta estándar (C), ratas alimentadas con una dieta estándar y sometidas a shock hemorrágico agudo y posterior retransfusión (S) y ratas alimentadas con una dieta suplementada con glicina al 5% durante 4 días y sometidas a shock hemorrágico y posterior retransfusión (G) observamos una reducción de los parámetros hepáticos indicadores de estrés oxidativo, TBARS y relación glutatión oxidado/glutatión reducido (GSSG/GSH), en el grupo alimentado con glicina y sometido a shock hemorrágico (tabla I). Similares resultados han obtenido Deters y cols.⁴¹ en 1997 en un proceso de hipoxia/reoxigenación hepática administrando glicina al líquido de perfusión, o inyectando glicina previo al shock hemorrágico⁴. Por otro lado la glicina previene el descenso de la actividad de las enzimas hepáticas antioxidantes (SOD, GPx y CAT) tras el shock hemorrágico (tabla I) y revierte el incremento de los ARNm de las mismas (fig. 2). El efecto de la glicina sobre las actividades de las enzimas antioxidantes, podría derivar del bloqueo ejercido por este aminoácido sobre la activación de las células de Kupffer^{1, 42-43} productoras de radicales libres tanto de oxígeno como de nitrógeno y de citoquinas, cuyas concentraciones se incrementarían en condiciones de daño por isquemia/reperfusión provocado por shock hemorrágico agudo. Dicho bloqueo impediría la actuación de estos factores sobre las enzimas antioxidantes, con la restauración de valores próximos a controles, tanto de la actividad como de los ARNm, de dichas enzimas.

Distintas moléculas pueden alterar tanto la actividad como los ARNm de las enzimas antioxidantes, éstas no tienen por que responder en el mismo sentido a la influencia de distintas moléculas y condiciones fisiopatológicas⁴⁴. Moléculas como la metionina, un aminoácido esencial cuya deficiencia parece estar ligada a patologías cardiovasculares, aumenta la actividad de las enzimas antioxidantes SOD, cata-

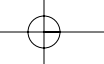


Tabla I
Efectos de una dieta suplementada con glicina sobre los TBARS, GSSG/GSH, enzimas antioxidantes hepáticas y concentración plasmática de TNF α

	Control	Shock hemorrágico	Shock + glicina
TBARS citosol (nmol/mg prot)	7,59 \pm 0,44	10,50 \pm 0,80*	6,30 \pm 0,64#
TBARS mitocondria (nmol/mg prot).....	25,06 \pm 2,57	49,32 \pm 6,32*	21,98 \pm 1,63#
GSSG/GSH 100	0,81 \pm 0,1	1,67 \pm 0,1*	1,00 \pm 0,06#
SOD Cu,Zn (U/mg prot)	3,91 \pm 0,26	3,03 \pm 0,23*	4,11 \pm 0,29#
SOD Mn(U/mg prot).....	1,97 \pm 0,31	1,00 \pm 0,12*	1,60 \pm 0,25#
GPx citosol (mU/mg prot)	365 \pm 22	270 \pm 19*	393 \pm 22#
GPx mitocondria (mU/mg prot).....	192 \pm 14	89 \pm 13*	180 \pm 23#
CAT (K/mg prot)	0,28 \pm 0,04	0,15 \pm 0,01*	0,23 \pm 0,03*#
TNF α (pg/ml).....	indetectable	377 \pm 70*	107 \pm 30*#

Valores medios \pm SEM n = 8. * p < 0,05 respecto a grupo control; # p < 0,05 respecto a grupo shock.

lasa y GPx, tras su administración oral sin modificar la cantidad de ARNm de la SOD y catalasa⁴⁵. Asimismo, el propranolol administrado de forma intravenosa aumenta las actividades de la GPx y catalasa sin modificaciones en la actividad de la SOD, no produce modificación en los ARNm de ninguna de las enzimas antioxidantes⁴⁶. Una molécula como el probucol, utilizado para proteger la cardiotoxicidad inducida por adriamicina, bloquea el descenso del ARNm, de la concentración proteica y la actividad de la SOD sin mostrar cambios en los ARNm de GPx y catalasa.

La glicina como antiinflamatorio

Las células de Kupffer del hígado constituyen el 80% de los macrófagos residentes en el organismo⁴⁷. La glicina bloquea el proceso inflamatorio sistémico que se origina en una amplia variedad de estados patológicos tales como trauma, shock hemorrágico, sepsis, quemados y procesos de isquemia/reperfusión, debido a la activación de macrófagos que liberan potentes mediadores inflamatorios tales como citoquinas tóxicas y eicosanoides, los cuales desempeñan un importante papel en la respuesta inflamatoria progresi-

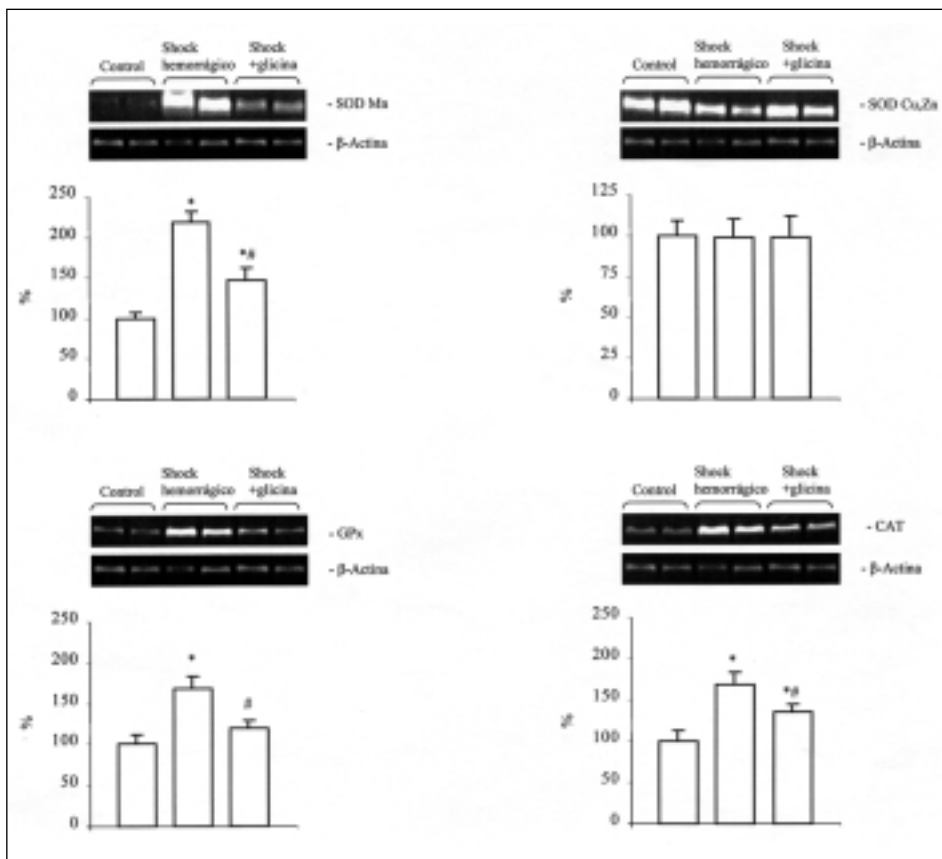
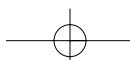


Fig. 2.—Expresión génica de los ARNm de las enzimas antioxidantes en diferentes grupos experimentales. Se utilizó como control interno β -actina. Se muestran reacciones representativas mediante RT-PCR de 5 ratas por grupo. Resultados expresados en porcentaje respecto al grupo control (valores medios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



va⁴⁸⁻⁴⁹. Se ha demostrado que los macrófagos son activados por endotoxinas, por la hipotensión sistémica y por los sucesivos procesos de isquemia/reperfusión⁵⁰⁻⁵¹. Además, la lesión de la mucosa intestinal causada por hipoperfusión/reperfusión conduce a la traslocación bacteriana y aumento de endotoxinas que son potentes activadores de macrófagos.

Además de promover toxicidad directa, el estrés oxidativo provocado por el shock hemorrágico o endotóxico también puede iniciar o amplificar la inflamación a través de la sobrerregulación de genes involucrados en la respuesta inflamatoria. El daño multiorgánico producido por los procesos de isquemia y reperfusión forma parte de una compleja respuesta inflamatoria.

Entre los posibles mecanismos por los cuales el intestino y el hígado producen citoquinas como consecuencia de las alteraciones producidas por shock hemorrágico, numerosas pruebas apuntan a que una de las mayores contribuciones la constituye el daño por isquemia/reperfusión⁵². Las endotoxinas liberadas en el intestino tras la isquemia producida por el shock hemorrágico estimulan la producción del factor de necrosis tumoral (TNF- α) una citoquina proinflamatoria que es liberada por monocitos y macrófagos activados y que tiene un papel crítico en los procesos inflamatorios sistémicos⁴⁹.

En un trabajo llevado a cabo por nuestro equipo encontramos una elevada concentración plasmática de TNF- α transcurrida una hora desde la resucitación en el grupo de animales sometido a shock hemorrágico y alimentado con dieta estándar, efecto que fue revertido en cierta medida por la alimentación de una dieta suplementada con glicina (tabla I). La concentración de TNF- α fue indetectable en ratas control que no fueron sometidas a shock hemorrágico. Pudimos observar que a las 20 horas de iniciado el shock hemorrágico, la concentración plasmática de TNF- α era indetectable. Estos resultados coinciden con los encontrados en experimentos llevados a cabo por distintos autores tanto en shock hemorrágico como endotóxico y bien administrando la glicina por vía venosa o con la dieta^{1, 42-43, 53}.

El TNF- α provoca aumento de la relación GSSG/GSH en células endoteliales y simultáneamente incrementa la concentración citosólica⁵⁴ de Ca²⁺. Igualmente se ha demostrado⁵⁵ que la exposición de hepatocitos a TNF- α disminuye la concentración de GSH y de ATP. Otra importante acción del TNF- α y otras citoquinas durante los procesos inflamatorios es la inducción de la isoenzima hepática óxido nítrico sintetasa⁵⁶ (NOS).

Glicina y óxido nítrico

Se ha relacionado al óxido nítrico (NO), un mediador biológico de corta vida media plasmática, producido por diversos tipos celulares tales como células

inflamatorias y hepáticas⁵⁷⁻⁵⁸, tanto con el mecanismo de señales moleculares como con distintas patologías derivadas de sus efectos tóxicos.

Se han descrito tanto efectos beneficiosos como perjudiciales al inhibir su formación⁵⁹⁻⁶⁰. Existe un consenso generalizado según el cual la excesiva producción de NO es citotóxica⁶¹⁻⁶² y contribuye al daño celular en distintos estados patológicos, incluyendo daño pulmonar agudo⁶³, shock endotóxico⁶⁴ y daño producido por los fenómenos de isquemia/reperfusión⁶⁶.

En condiciones fisiológicas el NO liberado de las células del endotelio vascular a través de la NOS constitutiva (ecNOS), regula el tono vascular, la presión sanguínea y la perfusión tisular⁶⁷. En diferentes condiciones patológicas, sin embargo, la forma inducible de la óxido nítrico sintetasa (iNOS) puede producir grandes cantidades de NO que están implicadas en la inducción de daño celular y disfunción orgánica.

Resultados obtenidos por diferentes investigadores incluido nuestro equipo⁶⁸⁻⁷⁰ evidencian una relación entre el incremento del estrés oxidativo en distintas patologías, su efecto sobre la actividad de la iNOS y el aumento en la síntesis de NO. El mecanismo responsable del incremento en la producción de NO tras shock hemorrágico puede tener su origen en el descenso en la perfusión del intestino delgado, hígado y bazo, ya que la hipoxia inducida por condiciones de flujo disminuido aumenta la liberación de citoquinas proinflamatorias desde estos órganos⁷¹ que podrían sobrerregular la expresión de la iNOS, conduciendo a un prolongado incremento tisular y plasmático de NO. Es posible que este aumento en la formación de NO esté involucrado en la descompensación vascular, el fallo orgánico y la fisiopatología de la respuesta inflamatoria sistémica. Todo esto nos lleva a establecer una relación entre el aumento de las especies reactivas de oxígeno, el incremento en la producción del TNF- α y la producción de NO derivado del aumento en la expresión de la iNOS, si bien no podemos descartar otras relaciones causales que produzcan incrementos en la producción de TNF- α y de NO en condiciones de estrés oxidativo.

Se podría sugerir que el aminoácido glicina impide el efecto tóxico derivado del incremento de la concentración de NO al bloquear tanto la producción de radicales libres como la producción de citoquinas inflamatorias, factores que favorecen la producción de NO derivado de la iNOS (fig. 3).

Glicina y factores de transcripción

En las células eucariotas la expresión de los genes está controlada por los factores de transcripción. Los factores de transcripción son proteínas que tienen la capacidad de establecer complejos estables con el ADN. Estos factores reconocen secuencias nucleotídicas específicas, localizadas en la región promotora de los genes,

con una longitud de menos de 20 pares de bases. La actividad de las proteínas que pueden unirse al ADN, como c-Jun, c-Fos o la familia Rel/NF- κ B regulan la actividad transcripcional de los genes de las citoquinas. La gran mayoría de los genes que codifican para citoquinas que participan en la respuesta inflamatoria tienen sitios κ B en sus regiones promotoras⁷².

El factor nuclear- κ B (NF- κ B) es un factor transcripcional identificado inicialmente como una proteína de origen linfoide, que se une al oligonucleótido GGGACTTCC presente en muchos genes⁷³. Su localización, en estado inactivo, es citoplasmática, se halla asociado a una proteína inhibidora de la familia I κ B. Su estructura es dimérica⁷⁴ y sus dímeros poseen regiones Rel, dichas regiones son las responsables de su unión con el ADN, a otras subunidades e incluso con la proteína I κ B.

Modificaciones en el NF- κ B/Rel/I κ B dan lugar a la activación de NF- κ B. Estas modificaciones⁷⁵ suelen consistir en fosforilaciones de la propia proteína NF- κ B o de la proteína I κ B. Las modificaciones de I κ B pueden ser inducidas por una gran variedad de agentes diferentes. El papel de NF- κ B está relacionado con la respuesta inflamatoria⁷⁶ y desempeña un papel importante en la activación de las células hepáticas estrelladas⁷⁷. Se ha sugerido⁷⁸ un papel antiapoptótico de NF- κ B.

Las vías de activación de NF- κ B son extremadamente sensibles a los cambios en el estado oxidativo celular⁷⁹⁻⁸⁰. La tioredoxina y diversos antioxidantes provocan la inhibición tanto de la unión de NF- κ B al ADN, como de la transactivación dependiente de NF- κ B. Se podría explicar⁸¹ por la capacidad de la tioredoxina para interaccionar con cinasas sensibles al estrés oxidativo, impidiendo su acción sobre la degradación/liberación de I κ B e inhibiendo así la activación de NF- κ B. Sin embargo, algunos autores han

descrito la activación a través de la reducción de residuos de cisteína conservados en el dominio de unión de las proteínas Rel promovida por tioredoxina y los antioxidantes^{79, 82}. Estas modificaciones redox podrían representar un mecanismo secundario de control ejercido por los antioxidantes dentro del núcleo. También se ha demostrado una clara activación de NF- κ B en células Hep G2 como consecuencia del incremento del estrés oxidativo hepático provocado por el etanol y su metabolito acetaldehído⁸³.

Las especies reactivas de oxígeno generadas en condiciones de shock hemorrágico activan factores reguladores nucleares como NF- κ B que afecta a la transcripción de genes de citoquinas^{53, 70}. La glicina administrada bien por vía oral o en inyección inhibe la activación del factor transcripcional NF- κ B que podría deberse no a un efecto directo sobre NF- κ B sino más bien al bloqueo o disminución de diversos factores que podrían inducir su estimulación, y que se pueden relacionar con alteraciones redox celulares como son las ERO, el NO y el TNF- α (fig. 3).

Mecanismo de acción de la glicina

Ya que la glicina es uno de los aminoácidos que desciende en suero en el shock, el papel inmunorregulador de la glicina puede ser muy importante. La dieta con glicina permite incrementar la concentración sanguínea de glicina a más de 1 mM desde concentraciones de 0,1-0,2 mM y proteger contra el shock causado por disminución sanguínea o endotoxinas.

La cuestión principal es evaluar el mecanismo molecular por el que la glicina tiene tantos efectos beneficiosos. Probablemente la glicina tenga efectos inhibidores en mecanismos de comunicación celular en células que contengan un canal de cloro sensible a glicina. Como se

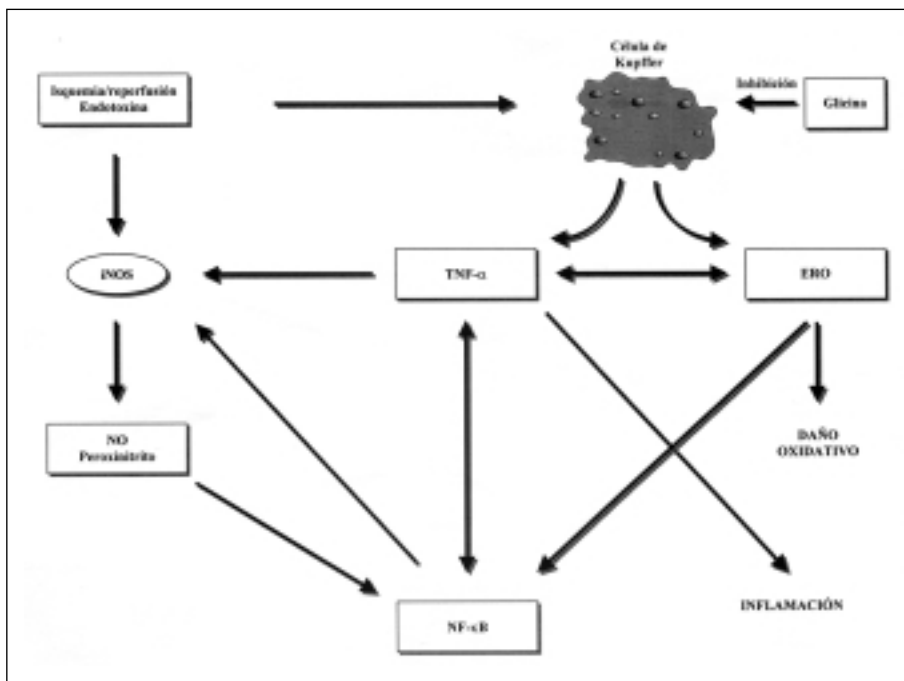


Fig. 3.—Supuesto modo de bloqueo por la glicina. La glicina inhibe la activación de las células de Kupffer bloqueando la producción por éstas de especies reactivas de oxígeno así como de citoquinas, factores que estimularían la producción de NO por la iNOS y la activación de NF- κ B.

comentó antes los canales de calcio sensibles a voltaje cumplen una función primordial en la elevación del calcio, necesario para los mecanismos de acción intracelular en muchos tipos celulares inmunes como las células de Kupffer. Además, es conocido que incrementos en el Ca^{2+} intracelular disparan la apertura de canales de cloro en la membrana plasmática, conduciendo a la hiperpolarización, haciendo más difícil la apertura de los canales de calcio dependientes de voltaje.

La hipótesis asumida por la mayoría de los investigadores es que con la apertura de los canales de cloro en la membrana plasmática de las células de Kupffer y otras células sanguíneas blancas, se dificulta o impide el influjo de calcio disparado por una variedad de agonistas, medicamentos y factores de crecimiento. Así, muchos otros estados patológicos que involucran activación de células inmunes, en particular macrófagos, neutrófilos y linfocitos, deberían estar afectados por elevados niveles de glicina, de acuerdo con esta hipótesis⁸⁸.

Además, la elevación de los niveles sanguíneos de glicina, con una simple administración dietaria, ha demostrado mejorar entre otros la situación en daño hepático por alcoholismo⁸⁴, algunas formas de cáncer⁸⁵, y la nefrotoxicidad debida a ciertos medicamentos⁸⁶.

Referencias

- Zhong Z, Enomoto N, Connor HD, Moss N, Mason RP y Thurman RG: Glycine improves survival after hemorrhagic shock in the rat. *Shock*, 1999, 12:54-62.
- Serrano L, Neira JL, Sancho J y cols.: Effect of alanine versus glycine in α -helices on protein stability. *Nature*, 1992, 356:453-455.
- Steinert PM, Mack JW, Korge BP et al.: Glycine loops in proteins: Their occurrence in certain intermediate filament chains, loricrins and single-stranded RNA binding proteins. *Int J Biol Macromol*, 1991, 13:130-139.
- Mackay K, Raghunath M, Superti-Furga A y cols.: Ehlers-Danlos syndrome type IV caused by Gly400Glu, Gly595Cys and Gly100Asp substitutions in collagen III: clinical features, biochemical screening and molecular confirmation. *Clin Genet*, 1996, 49:286-295.
- Yang W, Battineni ML y Brodsky B: Amino acid sequence environment modulates the disruption by osteogenesis imperfecta glycine substitutions in collagen-like peptide. *Biochemistry*, 1997, 36:6930-6945.
- Lee JY, Pulkkinen L, Liu HS y cols.: A glycine-to-arginine substitution in the triple-helical domain of type VII collagen in a family with dominant dystrophic epidermolysis bullosa pruriginosa. *J Invest Dermatol*, 1997, 108:947-949.
- Malwal Y, Paradis K y Qureshi IA: Developmental profile of mitochondrial glycine N-acyltransferase in human liver. *J Pediatr*, 1997, 130:1003-1007.
- Amelsberg A, Scheingart CD, Ton-Un HT y cols.: Carrier-mediated jejunal absorption of conjugated bile acids in the guinea pig. *Gastroenterology*, 1996, 110:1098-1106.
- Seva C, Dickinson CJ y Yamada T: Growth-promoting effects of glycine-extended progastrin. *Science*, 1994, 265:410-412.
- Milgram SL, Kho ST, Martin GV y cols.: Localization of integral membrane peptidylglycine alpha-amidating monooxygenase in neuroendocrine cells. *J Cell Sci*, 1997, 110:695-706.
- Kunin CM, Hua TH, Van Arsdale White L y cols.: Growth of *Escherichia coli* in human urine: Role of salt tolerance and accumulation of glycine betaine. *J Infect Dis*, 1992, 166:1311-1315.
- Laniado ME, Abel PD y Lelani EN: Ion channels: New explanations for old diseases. *Br Med J*, 1997, 315:1171-1172.
- Jentsch TJ y Gunther W: Chloride channels: An emerging molecular picture. *Bioessays*, 1997, 19:117-126.
- Ortells MO y Lunt GG: Evolutionary history of the ligand-gated ion-channel superfamily of receptors. *Trends Neurosci*, 1995, 18:121-127.
- Rajendra S, Lynch JW, Schofield PR: The glycine receptor. *Pharmacol Ther*, 1997, 73:121-146.
- Kuhse J, Betz H y Kirsch J: The inhibitory glycine receptor: Architecture, synaptic localization and molecular pathology of a postsynaptic ion-channel complex. *Curr Opin Neurobiol*, 1995, 5:318-323.
- Simpson RK Jr, Robertson CS y Goodman JC: Glycine: An important potential component of spinal shock. *Neurochem Res*, 1993, 18:887-892.
- Araki T, Ito M y Oscarsson O: Anion permeability of the synaptic and non-synaptic motoneurone membrane. *J Physiol*, 1961, 159:410-435.
- Aprison MH y Werman R: The distribution of glycine in cat spinal cord and roots. *Life Sci*, 1965, 4:2075-2083.
- Davidoff RA, Graham LT Jr, Shank RP, Werman R y Aprison MH: Changes in amino acid concentrations associated with loss of spinal interneurons. *J Neurochem*, 1967, 14:1025-1031.
- Hokfelt T y Ljungdahl A: Light and electron microscopic autoradiograph on spinal cord slices after incubation with labeled glycine. *Brain Res*, 1971, 32:189-194.
- Werman R, Davidoff RA y Aprison MH: Inhibition of motoneurons by ionophoresis of glycine. *Nature*, 1967, 214:681-683.
- Curtis DR, Hosli L, Johnston GAR y Johnston IH: The hyperpolarization of spinal motoneurons by glycine and related amino acids. *Exp Brain Res*, 1968, 5:235-258.
- Curtis DR, Hosli L y Johnston GAR: A pharmacological study of the depression of spinal neurones by glycine and related amino acids. *Exp Brain Res*, 1968, 6:1-18.
- Curtis DR: The depression of spinal inhibition by electrophoretically administered strychnine. *Int J Neuropharmacol*, 1962, 1:239-250.
- Young AB y Snyder SH: Strychnine binding associated with glycine receptors of the central nervous system. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1973, 70:2832-2836.
- Ikejima K, Qu W, Stachlewitz RF y Thurman RG: Kupffer cells contain a glycine-gated chloride channel. *Am J Physiol*, 1997, 272:G1581-G1586.
- Stachlewitz RF, Ikejima K y Thurman RG: Increases in intracellular calcium in neutrophils (PMNs) due to formyl-methionine-leucine-phenylalanine (FMLP) and endotoxin are blocked completely by glycine. *Hepatology*, 1995, 22:1105.
- Pfeiffer F y Betz H: Solubilization of the glycine receptor from the rat spinal cord. *Brain Res*, 1981, 226:273-279.
- Pfeiffer F, Graham D y Betz H: Purification by affinity chromatography of the glycine receptor of rat spinal cord. *J Biol Chem*, 1982, 257:9389-9393.
- Pfeiffer F, Simler R, Grenningloh G y Betz H: Monoclonal antibodies and peptide mapping reveal structural similarities between the subunits of the glycine receptor of rat spinal cord. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984, 81:7224-7227.
- Grenningloh G, Schmieden V, Schofield PR y cols.: Alpha subunit variants of the human glycine receptor: primary structure, functional expression, and chromosomal localization of the corresponding genes. *EMBO J*, 1990, 9:771-779.
- Handford CA, Lynch JW, Baker E y cols.: The human glycine receptor beta subunit: primary structure, functional characterization and chromosomal localization of the human and murine genes. *Brain Res Mol Brain Res*, 1996, 35:211-219.
- Ryan SG, Buckwalter MS, Lynch JW y cols.: A missense mutation in the gene encoding the alpha 1 subunit of the inhibitory glycine receptor in the spasmodic mouse. *Nat Genet*, 1994, 7:131-135.
- Saul B, Schmieden V, Kling C y cols.: Point mutation of glycine receptor alpha 1 subunit in spasmodic mouse affects agonist responses. *FEBS Lett*, 1994, 350:71-76.
- Kinsmore SF, Giros B, Suh D, Bieniarz M, Caron MG y Seldin MF: Glycine receptor beta-subunit gene mutation in spastic mouse associated with LINE-1 element insertion. *Nat Genet*, 1994, 7:136-141.
- Matzenbach B, Maulet Y, Sefton L y cols.: Structural analysis of mouse glycine receptor alpha subunit genes: identification and chromosomal localization of a novel variant. *J Biol Chem*, 1994, 269:2607-2612.
- Wheeler MD, Ikejima K, Enomoto N y cols.: Glycine: a new anti-inflammatory immunonutrient. *Cell Mol Life Sci*, 1999, 56:843-856.

39. Kurose I, Higuchi H, Kato S y cols.: Oxidative stress on mitochondria and cell membrane of cultured rat hepatocytes and perfused liver exposed to ethanol. *Gastroenterology*, 1997, 112:1331-1343.
40. Hamano K, Tsuboi H, Seyama A y Esato K: Shock-reperfusion injury to the central organs and the effect of free radical scavengers in the rat. *Surg Today*, 1993, 23:891-896.
41. Deters M, Strubelt O y Younes M: Protection by glycine against hypoxia-reoxygenation induced hepatic injury. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*, 1997, 97:199-213.
42. Ikejima K, Iimuro Y, Forman DT y Thurman RG: A diet containing glycine improves survival in endotoxin shock in the rat. *Am J Physiol* 1996, 271:97-103.
43. Stachlewitz RF, Seabra V, Bradford B y cols.: Glycine and uridine prevent D-galactosamine hepatotoxicity in the rat: role of Kupffer cells. *Hepatology*, 1999, 29:737-745.
44. Van Den Branden C, Ceysens B, De Craemer D y cols.: Antioxidant enzyme gene expression in rats with remnant kidney induced chronic renal failure. *Exp Nephrol*, 2000, 8:91-96.
45. Seneviratne CK, Li T, Khaper N y Signal PK: Effects of methionine on endogenous antioxidants in the heart. *Am J Physiol*, 1999, 277:2124-2128.
46. Khaper N, Rigatto C, Seneviratne C, Li T y Signal PK: Chronic treatment with propranolol induces antioxidant changes and protects against ischemia-reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol*, 1997, 29:3335-3344.
47. Laskin DL: Nonparenchymal cells and hepatotoxicity. *Sem Liver Dis*, 1990, 10:293-304.
48. Goris RJ, Te Boekhorst TP, Nuytinck JK y Gimbrere JS: Multiple-organ failure. Generalized autodestructive inflammation? *Arch Surg*, 1985, 120:1109-1115.
49. Carrico CJ, Meakins JL, Marshall JC, Fry D y Maier RV: Multiple-organ failure syndrome. *Arch Surg*, 1986, 121:196-208.
50. Bouwens L: Structural and functional aspects of Kupffer cells. *Revis Biol Celular*, 1988, 16:69-94.
51. Jaeschke H y Farhood A: Neutrophil and Kupffer cell-induced oxidant stress and ischemia-reperfusion injury in rat liver. *Am J Physiol*, 1991, 260:355-362.
52. Tamion F, Richard V, Lyoumi S y cols.: Gut ischemia and menenteric synthesis of inflammatory cytokines after hemorrhagic or endotoxic shock. *Am J Physiol*, 1997, 36:314-321.
53. Tamion F, Richard V, Bonmarchand G y cols.: Reduced synthesis of inflammatory cytokines by a free radical scavenger after hemorrhagic shock in rats. *Crit Care Med*, 2000, 28:2522-2527.
54. Toborek M, Barger SW, Mattson MP, McClain CJ y Hennig B: Role of glutathione redox cycle in TNF-alpha mediated endothelial cell dysfunction. *Atheroscler Thromb Vasc Biol*, 1995, 117:179-188.
55. Adamson GM y Billings RE: Tumor necrosis factor induced oxidative stress in isolated mouse hepatocytes. *Arc Biochem Biophys*, 1992, 294:223-229.
56. Nussler AK, Di Silvio KM, Billiar TR y cols.: Stimulation of the nitric oxide synthase pathway in human hepatocytes by cytokines and endotoxin. *J Exp Med*, 1992, 176:261-264.
57. Robbins RA, Springall DR, Warren JB y cols.: Inducible nitric oxide synthase is increased in murine lung epithelial cells by cytokine stimulation. *Biochem Biophys Res Commun*, 1994, 198:835-843.
58. Lee BS, Kang HS, Pyun KH y Choi I: Roles of tyrosine kinases in the regulation of nitric oxide synthesis in murine liver cells: modulation of NF-kappa B activity by tyrosine kinases. *Hepatology*, 1997, 25:913-919.
59. Bautista AP y Spitzer JJ: Inhibition of nitric oxide formation *in vivo* enhances superoxide release by the perfused liver. *Am J Physiol*, 1994, 266:783-788.
60. Ma TT, Ischiropoulos H y Brass CA: Endotoxin-stimulated nitric oxide production increases injury and reduces rat liver chemiluminescence during reperfusion. *Gastroenterology*, 1995, 108:463-469.
61. Radi R, Beckman JS, Bush KM y Freeman BA: Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *J Biol Chem*, 1991, 266:4244-4250.
62. Lipton SA, Choi YB, Pan ZH y cols.: A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso-compounds. *Nature*, 1993, 364:626-632.
63. Kooy NW, Royall JA, Ye YZ, Kelly DR y Beckman JS: Evidence for *in vivo* peroxynitrite production in human acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*, 1995, 151:1250-1254.
64. Minnard EA, Shou J, Naama H, Cech A, Gallagher H y Daly JM: Inhibition of nitric oxide synthesis is detrimental during endotoxemia. *Arch Surg*, 1994, 129:142-147.
65. Liu P, Yin K, Yue G y Wong PY: Role of nitric oxide in hepatic ischemia-reperfusion with endotoxemia. *J Inflamm*, 1995, 46:144-154.
66. Liu P, Hock CE, Nagele R y Wong PY: Formation of nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite in myocardial ischemia-reperfusion injury in rats. *Am J Physiol*, 1997, 272:2327-2336.
67. Moncada S, Palmer RMJ y Higgs EA: Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev*, 1991, 43:109-141.
68. Kuo PC, Schroeder RA y Loscalzo J: Nitric oxide and acetaminophen-mediated oxidative injury: modulation of interleukin-1-induced nitric oxide synthesis in cultured rat hepatocytes. *J Pharmacol Exp Ther*, 1997, 282:1072-1083.
69. Smail N, Catania RA, Wang P, Cioffi WG, Bland KI y Chaudry IH: Gut and liver. The organs responsible for increased nitric oxide production after trauma-hemorrhage and resuscitation. *Arch Surg*, 1998, 133:399-405.
70. Mauriz JL, Matilla B, Culebras JM, González P y González-Gallego J: Dietary glycine inhibits activation of nuclear factor kappa B and prevents liver injury in hemorrhagic shock in the rat. *Free Rad Biol Med*, 2001, 31:1236-1244.
71. Stark ME y Szurszewski JH: Role of nitric oxide in gastrointestinal and hepatic function and disease. *Gastroenterology*, 1992, 103:1928-1949.
72. Kim SJ, Glick A, Sporn MB y Roberts AB: Characterization of the promoter region of the human transforming growth factor-b1 gene. *J Biol Chem*, 1989, 264:402-408.
73. Sen R y Baltimore D: Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences. *Cell*, 1986, 46:705-716.
74. Román J: Contribución de los factores de transcripción NF- κ B y AP-1 en la patogenia de la fibrosis hepática y en la hepatopatía alcohólica. Tesis Doctoral. Facultad de Medicina, Universidad de Barcelona, 2000.
75. Hayashi T, Sekine T y Okamoto T: Identification of a new serine kinase that activates NF kappa B by direct phosphorylation. *J Biol Chem*, 1993, 15:26790-26795.
76. Mirza A, Liu SL, Frizell EP y cols.: A role for tissue transglutaminase in hepatic injury and fibrogenesis, and its regulation by NF-KappaB. *Am J Physiol*, 1997, 272:281-288.
77. Lee KS, Buck M, Houghum K y Chojkier M: Activation of hepatic stellate cells by TGF alpha and collagen type I is mediated by oxidative stress through c-myc expression. *J Clin Invest*, 1995, 96:2461-2468.
78. Baeuerle PA y Baltimore D: NF- κ B: Tenyears after. *Cell*, 1996, 87:13-20.
79. Toledano MB y Leonard WJ: Modulation of transcription factor NF- κ B binding activity by oxidation-reduction *in vitro*. *Proc Natl Acad Sci*, 1991, 88:4328-4332.
80. Baeuerle PA y Henkel T: Function and activation of NF- κ B in the immune system. *Annu Rev Immunol*, 1994, 12:141-179.
81. Schenk H, Klein M, Erdbrügger W y Dröge W: Distinct effects of thioredoxin and antioxidants on the activation of transcription factors NF- κ B and AP-1. *Proc Natl Acad Sci*, 1994, 91:1672-1676.
82. Kumar S, Rabson AB y Gelinas C: The RxxRxxC motif conserved in all Rel/B proteins is essential for the DNA binding activity and redox regulation of the v-Rel oncoprotein. *Mol Cell Biol*, 1992, 12:3094-3106.
83. Román J, Colell A y Blasco C: Differential role of ethanol and acetaldehyde in the induction of oxidative stress in HepG2 cells: effect on transcription factors AP-1 and NF- κ B. *Hepatology*, 1999, 30:1473-1480.
84. Yin M, Ikejima K, Arteel GE y cols.: Glycine accelerates recovery from alcohol-induced liver injury. *J Pharmacol Exp Ther*, 1998, 286:1014-1019.
85. Rose ML, Madren J, Bunzendahl y Thurman RG: Dietary glycine inhibits the growth of B16 melanoma tumors in mice. *Carcinogenesis*, 1999, 20:793-798.
86. Thurman RG, Zhong Z, Frankenberg M, Stachlewitz RF y Bunzendahl H: Prevention of cyclosporin-induced nephrotoxicity with dietary glycine. *Transplantation*, 1997, 63:1661-1667.