



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**PARTICIPACIÓN DE LOS RECEPTORES ACTIVADOS POR LIGANDO EN  
LA ISQUEMIA CEREBRAL A TRAVÉS DEL AMINOÁCIDO GLICINA.**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO  
DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA**

**AUTORA: ALEJANDRA CORDOVA ORMAZABAL  
PROFESOR (A) GUÍA: BQ. DR TRINIDAD MARIQUEO CANCINO.**

**TALCA-CHILE  
AÑO 2022**

## CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2023



## **DEDICATORIA**

El presente trabajo está dedicado a mi padre Dios y a mi familia; mi mamita Gloria que ha sido mi pilar fundamental a lo largo de mi educación desde que soy pequeña.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco grandemente a Dios y al señor Jesús por acompañarme y ayudarme siempre darme su fortaleza, amor y cumplir sus promesas para conmigo. También a mi familia; mi mamá Gloria, mi hermana Ana y mi papá Exequiel por estar siempre detrás de mí dándome su apoyo incondicional a lo largo de estos años en cada proceso vivido. Finalmente agradezco a cada uno de los que aportó para poder llegar a esta etapa casi final de la universidad; a mi profesora guía Trinidad y al FONDECYT N° 11220157 por guiarme hacia el término de este documento.

“El sabio tiene hambre de conocimiento, mientras que el necio se alimenta de basura  
(Proverbios 15: 14)”

## TABLA DE CONTENIDO

<b>1</b>	<b>RESUMEN</b> .....	<b>7</b>
<b>2</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>8</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>10</b>
<b>3.1</b>	<b>OBJETIVO GENERAL</b> .....	<b>10</b>
3.1.1	Explicar el grado de participación de los receptores activados por ligando en la isquemia cerebral a través del aminoácido glicina. ....	10
<b>3.2</b>	<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	<b>10</b>
3.2.1	Caracterizar al aminoácido glicina con sus transportadores y receptores. ....	10
3.2.2	Describir a los receptores involucrados en las sinapsis inhibitorias.....	10
3.2.3	Analizar el papel de la glicina, sus receptores y transportadores en la isquemia cerebral/ función endotelial. ....	10
<b>4</b>	<b>METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA Y ORGANIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN</b> .....	<b>11</b>
<b>5</b>	<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>12</b>
<b>5.1</b>	<b>ASPECTOS GENERALES DE GLICINA</b> .....	<b>12</b>
5.1.1	<b>Descripción:</b> .....	12
5.1.2	<b>Síntesis en SNC</b> .....	12
5.1.3	<b>Glicina como neurotransmisor.</b> .....	15
<b>5.2</b>	<b>SINAPSIS GLICINÉRGICA</b> .....	<b>16</b>
5.2.1	<b>Características de la sinapsis glicinérgica.</b> .....	16
5.2.2	<b>Modulaciones de la sinapsis.</b> .....	19
5.2.3	<b>Transportadores de glicina</b> .....	20
5.2.4	<b>Receptores de glicina</b> .....	26
<b>5.3</b>	<b>OTROS MIEMBROS DE IMPORTANCIA DE LA FAMILIA DE LOS RECEPTORES ACTIVADOS POR LIGANDO (LGIC) (GABA, NMDA y P2X).</b>	

5.3.1	Características generales. ....	28
5.3.2	Receptor GABA .....	30
5.3.3	Receptor NMDA .....	31
5.3.4	Receptor P2X .....	32
6	<b>ROL DE LA GLICINA EN ISQUEMIA CEREBRAL:.....</b>	<b>33</b>
6.1	Angiogénesis e isquemia/ perfusión. ....	34
6.1.1	Factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF).....	34
6.1.2	STAT 3.....	37
6.1.3	MTOR.....	38
6.2	GlyR y GlyT en isquemia .....	40
6.3	NMDA en isquemia.....	41
6.4	Vía VEGF/ STAT 3.....	43
6.5	GlyT1/Glicina/mTOR/canal aniónico dependiente de voltaje 1 (VDAC1).....	46
7	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>48</b>
8	<b>GLOSARIO DE SIGLAS .....</b>	<b>50</b>
9	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS. ....</b>	<b>52</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS.

<b>Figura 1. Vías del metabolismo de la glicina en el tejido nervioso.....</b>	<b>14</b>
<b>Figura 2. Representación de la sinapsis glicinérgica con sus receptores y transportadores.....</b>	<b>18</b>
<b>Figura 3. Distribución neuroanatómica de los transportadores de glicina tipo 1 y 2.....</b>	<b>24</b>
<b>Figura 4. Topología de membrana y estructura molecular de transportadores de glicina.....</b>	<b>25</b>
<b>Figura 5. Diagrama esquemático de la estructura del receptor de glicina.....</b>	<b>27</b>
<b>Tabla 1. Funciones principales de los receptores LGICs de unión a glicina.....</b>	<b>30</b>
<b>Figura 6. Estructura general de los LGIC.....</b>	<b>32</b>
<b>Figura 7. Estructura representativa de los receptores de tirosina quinasa del factor vascular.....</b>	<b>36</b>
<b>Figura 8. Activación y funciones de ambos complejos mTOR.....</b>	<b>39</b>
<b>Figura 9. Esquematización de las vías involucradas en los efectos de la dosis de glicina en la isquemia.....</b>	<b>47</b>

## 1 RESUMEN

La glicina es un neurotransmisor de doble acción que actúa a través de los receptores de glicina que son proteínas transmembranas de superficie celular que pertenecen a la superfamilia de canal iónico cerrado por ligando de bucle Cys (LGICs de bucle Cys). Como neurotransmisor de acción dual, la glicina juega un papel fundamental en la isquemia cerebral al activar tanto los receptores de glicina (GlyR) como los receptores de ácido N-metil-D-aspartato (NMDAR). Los GlyR se pueden montar como homopentámeros compuestos por subunidades  $\alpha$  ( $\alpha 1$  a  $\alpha 4$ ) o heteropentámeros formando complejos con la subunidad  $\beta$  auxiliar. A su vez la glicina tiene relación con receptores GABA, AMPA y NMDA. En el último año ha surgido nueva información sobre la modulación de la función de células endoteliales vasculares (ECs) por GlyRs. GlyRs ha sido reconocido por jugar un papel como un protector neurovascular por un mecanismo que implica GlyR $\alpha 2$ s. Curiosamente, la expresión de GlyR $\alpha 2$  en el endotelio vascular se redujo después de la lesión post-accidente cerebrovascular. Por lo tanto, la protección vascular ejercida por la glicina fue abolida por la inhibición de GlyR $\alpha 2$  en un mecanismo que implica la señalización VEGF/STAT3. Además, recientemente se ha informado que los GlyRs son modulados por Interleukin 1 abriendo la puerta a nuevas perspectivas que explican la modulación inmune de la función vascular en condiciones patológicas como el accidente cerebrovascular isquémico. Por otro lado, en esta revisión se sugiere que, en el futuro, los mecanismos en los que se encuentra involucrada la glicina podrían implicar un nuevo foco terapéutico en la lesión isquémica por lo que destacaré el papel de los receptores de glicina, glicina y la relación/participación de los LGICS frente a la lesión post-isquémica.

**Palabras clave:** Glicina, LGICS, lesión isquémica, receptores y transportadores de glicina.

## 2 INTRODUCCIÓN

La glicina es un aminoácido no esencial más simple al que se le conocen diferentes funciones está presente en concentraciones bastante bajas en todas las células de un organismo, ya que es uno de los aminoácidos proteinogénicos. Sin embargo, subpoblaciones relativamente pequeñas de neuronas muestran una concentración citoplasmática de glicina mucho más alta, por lo que actúa principalmente como neurotransmisor inhibitorio en el sistema nervioso central (SNC) regulando la actividad de neuronas de circuitos motores y sensoriales ubicados fundamentalmente en el tronco encefálico y médula espinal participando de importantes funciones fisiológicas como el control del tono muscular, la respiración, el procesamiento sensorial y del dolor. Además, actúa como agonista tanto de GlyR inhibidores como también de NMDA excitadores.

La glicina puede regular la inhibición del hipocampo a través de la regulación de otro receptor inhibitorio importante, los receptores GABA A. De esta forma la glicina y sus receptores permiten la regulación de la plasticidad sináptica y de red del hipocampo. Correlacionándose fuertemente con la familia de los receptores activados por ligando (LGIC) de la familia de bucle Cys entre los que destaca GABA, GlyR y la familia del receptor ionotrópico de glutamato entre los que sobresale NMDA. Considerando que la glicina tiene un evidente papel neuro-protector que se ha visto evidenciado en distintos tipos celulares; como células inmunes, hepatocitos, células renales y células endoteliales entre otras y que existen numerosos estudios que demuestran la participación de la glicina en diversas condiciones fisiopatológicas como trastornos de hiperexcitabilidad, esquizofrenia y autismo, se ha sugerido que participa en la regulación de la isquemia cerebral previniendo la apoptosis de las células endoteliales, regulando bidireccionalmente la lesión post-isquémica de una manera dependiente de la dosis y mediando tolerancia isquémica que se refiere a la protección cerebral inducida por su exposición previa a varios estímulos que reduce la vulnerabilidad neuronal a un insulto isquémico posterior (1). Donde se ha demostrado que a través de la activación de sus receptores (GlyR $\alpha$ 2 y GlyR $\alpha$ 1), transportadores (GlyT1 y GlyT2) y además su relación con otros receptores son principales objetivos farmacológicos presentes en el sistema nervioso por su papel en la neurotransmisión, por lo que el presente trabajo

tiene por objetivo recopilar información en relación al papel que desempeña la glicina como un neurotransmisor que actúa como un citoprotector de la función endotelial (isquemia cerebral) a través de diferentes vías involucradas, entre ellas VEGF/STAT3 y como a su vez la glicina se ve involucrada con los diferentes receptores que participan en la función neuronal (sinapsis glicinérgica). Todo lo anterior se realizará mediante la revisión exhaustiva de artículos científicos recuperados de bases de datos (Pubmed, web of science, Dialnet, Google académico).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GENERAL**

- 3.1.1 Explicar el grado de participación de los receptores activados por ligando en la isquemia cerebral a través del aminoácido glicina.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- 3.2.1 Caracterizar al aminoácido glicina con sus transportadores y receptores.
- 3.2.2 Describir a los receptores involucrados en las sinapsis inhibitorias
- 3.2.3 Analizar el papel de la glicina, sus receptores y transportadores en la isquemia cerebral/ función endotelial.

#### 4 METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA Y ORGANIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN

La búsqueda se realizó exhaustivamente en las bases de datos de PubMed, Dialnet, Google académico, web of science. Además, se utilizó la herramienta Endnote web que es facilitada por la Universidad de Talca a los estudiantes para realizar la búsqueda y lectura de algunos documentos restringidos para todo público. La búsqueda se realizó principalmente en base a palabras claves del tema a tratar, entre las que destacan: *LGIC, glicina, GABA, NMDA, función endotelial, isquemia, sinapsis glicinérgica e inhibitorias*. A su vez las palabras clave fueron relacionadas en las diferentes bases datos por medio de conectores como “y”, “en” entre otros.

Por otra parte, la selección de la información fue en base a la lectura de varios documentos relacionados que se dirigían hacia un mismo tema los cuales fueron guardados en carpetas asociadas al subtema para posteriormente narrar el proyecto memoria con coherencia y cohesión. Cabe destacar que a partir de las referencias de un documento de interés (papers principalmente) se obtuvieron más documentos de los cuales se obtuvo información relevante. Sin embargo, la lectura de papers no fue la única fuente de información, tesis de pregrado obtenidas de Google académico permitieron la obtención de información relevante asociada a varios puntos a lo largo de este proyecto.

La búsqueda se realizó enfocada en años actuales, principalmente desde el año 2000 hasta la actualidad, sin embargo, es importante mencionar que existen datos de otros años, necesarios para la revisión.

## 5 MARCO TEÓRICO

### 5.1 ASPECTOS GENERALES DE GLICINA

#### 5.1.1 Descripción:

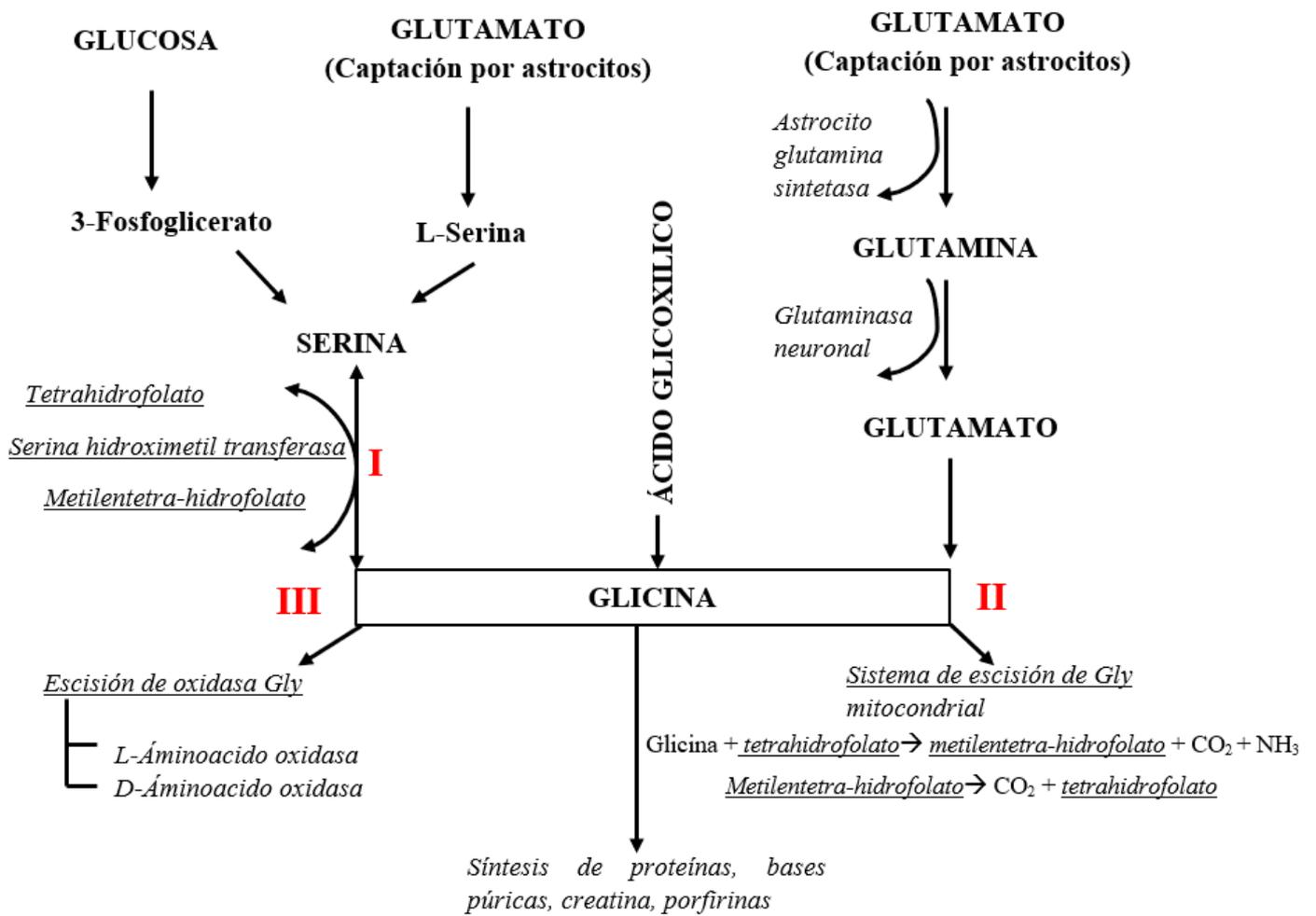
La glicina es el más pequeño de los aminoácidos y consiste en una molécula de carbono unida a un grupo amino y carboxilo (2), es un aminoácido no esencial y una sustancia clave en el metabolismo de fragmentos de monocarbono, proteínas, péptidos, nucleótidos, porfirinas y sales biliares. Se encuentra en la mayoría de los tejidos y es sintetizada por animales, microorganismos y plantas (3). Es una sustancia clave en una serie de reacciones metabólicas, es un neurotransmisor inhibitor importante, que actúa en los canales del receptor de glicina (GlyR) sensibles a la estricnina en la membrana neuronal postsináptica (4), es un neurotransmisor inhibitor bien establecido en el sistema nervioso maduro, especialmente en la médula espinal y el tronco encefálico, el tronco encefálico es un área cerebral involucrada en la regulación de múltiples funciones sensoriales y viscerales, siendo la ubicación de los centros cardiovascular, respiratorio y auditivo (5), por lo que está implicada en la coordinación de las respuestas reflejas, en el procesamiento de señales sensoriales y la sensación de dolor (6). Además de la función de neurotransmisor, glicina tiene efectos citoprotectores y moduladores en diferentes tipos de células no neuronales, estos efectos citoprotectores se describieron principalmente en células renales, hepatocitos y células endoteliales, donde la glicina protege las células de la muerte celular isquémica (7) y se libera después de la despolarización de las vesículas sinápticas contenida en la terminal nerviosa de las interneuronas por excitación dependiente de calcio (6).

#### 5.1.2 Síntesis en SNC

La glicina tiene una estructura molecular simple con una cadena lateral que consta de un solo átomo de hidrógeno (8). Los seres humanos pueden sintetizar glicina a partir de glioxilato, de glucosa a través de serina, betaína y treonina (9). En donde la glucosa y

la serina son las principales fuentes de biosíntesis de Gly en el sistema nervioso central (SNC), la serina, puede funcionar como un precursor de la glicina al transferir el carbono-B en su cadena lateral al tetrahidrofolato (THF). La reacción es reversible y catalizada por la enzima serina hidroximetiltransferasa (8). Otras dos fuentes de síntesis de Gly en el sistema nervioso humano y animal son el glutamato y el glioxilato (10).

Sé ha demostrado que la serina hidroximetiltransferasa (SHMT) y un sistema de escisión de la glicina (GCS) pueden sintetizar y degradar la glicina en el sistema nervioso central (4). Existen al menos tres vías de catabolismo de glicina (Gly) en el tejido nervioso (10): El primero *se basa en la reversibilidad de la reacción de conversión de serina en Gly en el tejido cerebral* donde, la serina hidroximetiltransferasa puede actuar como la enzima metabolizadora de Gly. *El sistema de escisión de Gly que se localiza sólo en las mitocondrias*, es un complejo multienzimático que comprende cuatro proteínas: La *proteína P (GLDC)*, que cataliza el piridoxal-fosfato dependiente de descarboxilación de glicina; la *proteína H (GCSH)*, un portador de hidrógeno dependiente del ácido lipoico; la *proteína T (AMT)*, que exhibe actividad aminometiltransferasa (AMT) dependiente de tetrahidrofolato (THF); y la *proteína L (DLD)*, una lipoamida deshidrogenasa. El complejo se localiza en la membrana mitocondrial interna (9), cataliza la escisión de Gly en metilentetrahydrofolato, dióxido de carbono y amoníaco; El metileno THF sufre una oxidación adicional con la formación de dióxido de carbono, el producto final de este aminoácido. *También está la vía que involucra oxidasas de aminoácidos (EC 1.4.3.2, 1.4.3.3); en el SNC*, estas enzimas muy abundantes utilizan Gly y otros aminoácidos como sustratos (10) (Figura 1). Es importante destacar que en el cerebro, la glicina se deriva predominantemente por síntesis de novo, a través de la vía que va de la glucosa a través de la serina a la glicina (11).



**Figura 1. Vías del metabolismo de la glicina en el tejido nervioso.** I: Conversiones mutuas de glicina y serina en la reacción de serina hidroximetiltransferasa. II—oxidación directa de glicina por oxidasas, III—escisión de glicina por el sistema mitocondrial. Los principales intermediarios utilizados para la síntesis de glicina se muestran en negrita, las enzimas involucradas en el metabolismo de la glicina se muestran en cursiva, las cursivas subrayadas muestran tetrahidrofolato. Tomada y adaptada de (Nikandrov, V). 2012 (10).

### 5.1.3 Glicina como neurotransmisor.

La glicina es un neurotransmisor de aminoácidos que participa en la transmisión neuroquímica tanto inhibitoria como excitadora en el sistema nervioso central (SNC) (12), *Aprison* y *Werman* propuso por primera vez que la glicina actúa como un neurotransmisor en el sistema nervioso central (SNC) de los mamíferos. Señalaron que la concentración de glicina en la médula espinal es más alta que en otras partes del cerebro. Más tarde, *Hopkin* y *Neal* revelaron que este aminoácido podría liberarse de los cortes de la médula espinal después de la estimulación. Después de muchas investigaciones neuroquímicas y electrofisiológicas, la glicina cumplió con muchos de los criterios para que una sustancia sea aceptada como neurotransmisor (13).

Los neurotransmisores se difunden a través de la hendidura sináptica y se unen selectivamente a las moléculas receptoras en la membrana de la neurona postsináptica. Dependiendo del receptor activado, esto puede conducir a la excitación o inhibición de la célula postsináptica. La glicina se liberaba de pequeñas interneuronas en la materia gris lumbosacra. Estudios autorradiográficos posteriores establecieron que las sinapsis de la médula espinal contenían altas concentraciones. Investigaciones posteriores han demostrado que la glicina se elimina de la hendidura sináptica mediante transportadores de alta afinidad y que el transporte vesicular es idéntico para la glicina y el GABA (8).

La glicina tiene funciones duales como neurotransmisor, una de ellas es que funciona como agonista de los receptores inhibidores de glicina (GlyR) y el otro es un coagonista de los receptores NMDA excitadores (11). La activación simultánea de NMDAR excitadores y GlyR inhibitorios puede proporcionar una regulación homeostática de la función de la red del hipocampo. Además, la glicina puede regular la actividad neuronal del hipocampo mediante la inhibición cruzada de la inhibición GABAérgica mediada por GlyR, o mediante la internalización dependiente del sitio de unión de la glicina de los NMDAR (4). Los GlyR inhibidores se concentran en la parte inferior del cerebro y la afinidad de glicina a GlyR es baja, lo que lleva a un alto contenido de glicina en la parte inferior del cerebro. Por el contrario, en la parte superior del cerebro hay pocas neuronas glicinérgicas y la afinidad de glicina a NMDAR es muy alta, lo que lleva a un bajo contenido de glicina en el prosencéfalo. Estas diferentes funciones de la glicina como neurotransmisor en la parte superior del cerebro y la parte

inferior del cerebro hacen un gradiente caudal-rostral pronunciado en el contenido de glicina (11).

La neurotransmisión glicinérgica implica el almacenamiento del aminoácido en vesículas presinápticas, la liberación exocitótica tras la despolarización después de la afluencia de  $Ca^{2+}$ , y la unión de la glicina a receptores ionotrópicos específicos, permeables al cloruro ( $Cl^-$ ) expresados en la membrana postsináptica. La característica de coagonista del receptor de la glicina se asocia con la activación de la neurotransmisión glutamatérgica mediada por el receptor NMDA. Recientemente, se han acumulado pruebas que demuestran que la glicina también puede ser liberada por los terminales de los axones glutamatérgicos y que, tras su liberación presináptica, participa en la activación de los receptores NMDA (12) en donde la unión de glicina a un sitio receptor de NMDA de glicina-B es necesaria tanto para la apertura del canal iónico como para la internalización del receptor. Este canal catiónico controlado por ligando promueve la excitación neuronal. Por lo tanto, la glicina funciona como un modulador alostérico positivo de los receptores NMDA y, por lo tanto, puede contribuir a la plasticidad neuronal (14).

## **5.2 SINAPSIS GLICINÉRGICA**

### **5.2.1 Características de la sinapsis glicinérgica.**

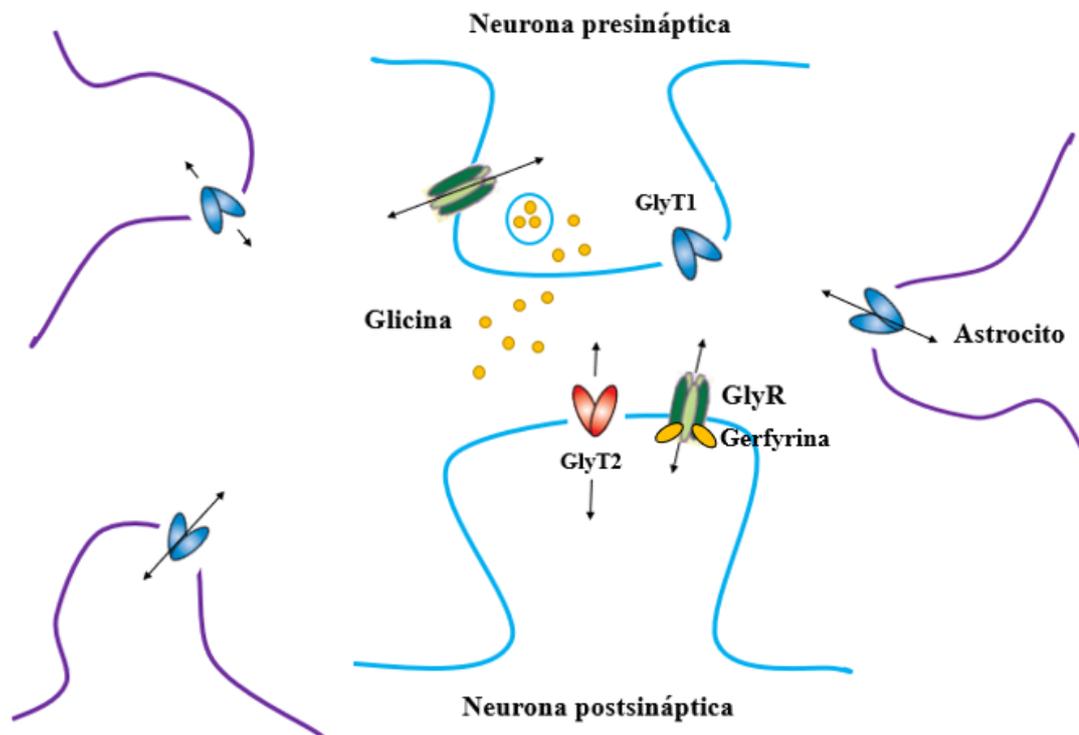
Desde un punto de vista anatómico el sistema nervioso (SN) se divide en sistema nervioso central (SNC) y periférico (SNP). La unidad básica del SN es la neurona, una célula excitable capaz de recibir e integrar señales eléctricas y propagarlas a lo largo de la membrana plasmática permitiendo que la información sea transmitida entre neuronas a través de la sinapsis. Desde el punto de vista morfológico y funcional, la sinapsis neuronal es una estructura diferenciada y especializada a través de la cual se produce la comunicación. Existen dos tipos de sinapsis: eléctricas y químicas. Las sinapsis químicas son mayoritarias en el SN y están constituidas por el terminal del axón de una neurona (botón presináptico) en aposición directa a una región (espinas dendríticas, soma o axón) de la neurona postsináptica. Entre la membrana presináptica y postsináptica

queda un espacio denominado hendidura sináptica (20-50 nm en SNC), a través del cual se produce la comunicación interneuronal por medio de sustancias químicas, los neurotransmisores. (15).

Los neurotransmisores pueden clasificarse, además, según su naturaleza química en: aminoácidos (glutamato, ácido  $\gamma$ -amino butírico (GABA) y glicina), aminas (monoaminas como dopamina, serotonina y noradrenalina; acetilcolina), purinas (ATP y adenosina), péptidos (sustancia P, opioides, somatostatina) y neurotransmisores no convencionales (endocannabinoides y neuroesteroides, entre otros) (15).

La transmisión glicinérgica inhibitoria (Figura 2) en la médula espinal y el tronco cerebral es fundamental para el procesamiento de la información motora y sensorial que controla actividades como el movimiento, la visión o la audición, así como la sensibilización al dolor inflamatorio (16).

El control de la excitabilidad de las células nerviosas es crucial para el funcionamiento normal del cerebro. Los neurotransmisores de aminoácidos GABA ( $\gamma$ -aminado-ácido butírico) y glicina median la inhibición sináptica (17). Las sinapsis inhibitorias que liberan glicina y / o GABA (sinapsis de tipo 2; se caracterizan morfológicamente por botones presinápticos que contienen vesículas pequeñas (10 a 20 nm) y pleiotrópicas (elipsoidales o aplanadas). El ancho de su hendidura sináptica es de 10 a 20 nm. (en comparación con 30-40 nm en las sinapsis excitadoras o tipo 1). Las sinapsis inhibitorias generalmente muestran densidades simétricas pre y postsinápticas, mientras que las sinapsis excitadoras se caracterizan por densidades asimétricas (18). Ambos transmisores activan directamente clases distintas pero homólogas de canales iónicos permeables al cloruro (17) y se ha detectado transmisión sináptica glicinérgica en la médula espinal de los mamíferos, en las células de Golgi del cerebelo y en las células ganglionares de la retina. Las sinapsis glicinérgicas funcionales quedan por demostrar en otras áreas del cerebro (18).



**Figura 2. Representación de la sinapsis glicinérgica con sus receptores y transportadores.** La glicina se almacena en las vesículas sinápticas desde donde se libera a la hendidura sináptica tras la fusión de las vesículas con la membrana presináptica (15). En las sinapsis inhibitorias, la liberación de glicina de la terminal presináptica activa GlyRs postsinápticos y por lo tanto induce la afluencia de Cl<sup>-</sup>/K<sup>+</sup> - hiperpolarización - de la célula postsináptica gracias a las proteínas de andamiaje gerfyrina y colibistina (15), el GlyT2 se localiza en la membrana plasmática presináptica de las neuronas glicinérgicas, mientras que GlyT1 se expresa principalmente en las células de la glía (19), principalmente en astrocitos (4). Elaboración propia (Cordova, A). 2022.

### 5.2.2 Modulaciones de la sinapsis.

Las sinapsis glicinérgicas operan a través de receptores de canales de cloruro cerrados por glicina (GlyR) con permeabilidades iónicas similares a los receptores GABA<sub>A</sub>, pero con diferentes niveles de conductancia. Las corrientes sinápticas glicinérgicas suelen tener picos de amplitud más grandes y una cinética más rápida que las mediadas por los receptores GABA<sub>A</sub>, sus mecanismos postsinápticos se han considerado bastante simples porque carecen de una gran variedad de isoformas del receptor de glicina(20).

Los GlyRs tienen tres sitios donde la glicina podría unirse (21), tras la unión del agonista, el canal cambia del estado de reposo (Apo) a conformaciones abiertas y desensibilizadas (22). Los GlyR pueden intercambiarse dinámicamente entre ubicaciones sinápticas y extrasinápticas a través de la difusión lateral dentro de la membrana plasmática. Su acumulación en las sinapsis inhibitoras depende de la interacción de la subunidad  $\beta$  del GlyR con la proteína de armazón sináptica gefirina (23) una proteína de membrana periférica de 93 kDa (17), la cual confiere la estabilidad al receptor en la densidad postsináptica. El dominio intracelular (DIC) es la única región de los GlyR que posee sitios de fosforilación (24). Una alteración de la unión del receptor a la gefirina podría cambiar el equilibrio entre los GlyR sinápticos y extrasinápticos y modular la fuerza de la neurotransmisión inhibitoria (23). La capacidad de la gefirina para controlar la distribución subcelular de los GlyR y su presencia en las sinapsis de la glicina sugiere que es un componente clave para la localización postsináptica del receptor (17).

Los GlyR se modulan mediante la activación de proteína quinasa C (PKC), proteína quinasa A (PKA) y calmodulina quinasa II dependiente de calcio (CaMKII). Existe una secuencia de consenso clara para la fosforilación de PKC que consiste en un residuo de serina localizado en la posición 391 en el bucle citoplásmico intracelular M3-M4 (18). Se ha demostrado que la PKA facilita la liberación de neurotransmisores mediante el control de la excitabilidad neuronal, de la entrada de Ca<sup>2+</sup>, y del reclutamiento y fusión de las vesículas sinápticas (SVs) (25). En ausencia de AMPc, la PKA es una holoenzima tetramérica inactiva compuesta por subunidades reguladoras (R) unidas a

subunidades catalíticas (C). La unión de AMPc en las subunidades R permite la actividad fosfotransferasa de C, resultando en la fosforilación de residuos de serina y treonina de numerosas proteínas (26). La proteína quinasa C (PKC) es una quinasa de serina/treonina(25), se activan cuando la fosfolipasa C es estimulada. Esta proteína es responsable de hidrolizar fosfatidilinositol 4,5-bifosfato generando diacilglicerol (DAG), que activa la PKC, e inositol trifosfato, que moviliza el calcio intracelular. Las isoformas convencionales de PKC son farmacológicamente activadas por ésteres de forbol que anclan la PKC en su conformación activa a la membrana celular. Al igual que la PKA poseen dominios catalíticos y dominios regulatorios que mantienen la enzima en su conformación inactiva. La PKC se encuentra en el citosol de células, la unión de DAG (o esteres de forbol) y fosfolípidos aniónicos dependientes de calcio al dominio regulatorio activan la enzima anclándola a la membrana, exponiendo el dominio de unión para el sustrato y facilitando su activación (26). Otros componentes que modulan la actividad de los GlyR incluyen el zinc, el alcohol y los anestésicos, la picrotoxina la cocaína y algunos anticonvulsivos (16).

### **5.2.3 Transportadores de glicina**

Los flujos de glicina en las sinapsis inhibitoras y excitadoras están controlados por dos transportadores de glicina, GlyT1 y GlyT2, que pertenecen a la familia de los transportadores de neurotransmisores dependientes de sodio y cloruro ( $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$ ) proteínas transportadoras dependientes, que incluyen transportadores de monoaminas (serotonina, norepinefrina y dopamina) y el ácido g-aminobutírico (GABA) (19), son miembros de la familia de transportadores de solutos 6 (SLC6) (27), codificados por los genes SLC6A9 y SLC6A5, respectivamente (28) ubicados en la membrana plasmática de las células gliales o terminales presinápticas, respectivamente (29), son proteínas que muestran una distribución y actividad complementarias en el sistema nervioso (6), glicoproteínas de membrana con una disposición estructural de 12 segmentos transmembrana (30) conectados por seis bucles extracelulares y cinco intracelulares (19).

En las sinapsis inhibitoras, las acciones postsinápticas de la glicina terminan por el mecanismo de recaptación rápida, que está mediado principalmente por

transportadores de glicina (GlyT) (31), recapturan la glicina de la hendidura sináptica para finalizar la señal glicinérgica inhibitoria y asegurar los niveles de glicina intracelulares para su reciclaje en las vesículas sinápticas por VIAAT (15). Se diferencian claramente en su distribución celular, estando GlyT2 estrechamente asociado a neuronas glicinérgicas en la médula espinal, el tronco encefálico y el cerebelo, donde la proteína se enriquece en terminales presinápticas que contienen altas concentraciones intracelulares de glicina. Por el contrario, GlyT1 se concentra en las células gliales y, al igual que GlyT2, también está enriquecido en áreas glicinérgicas donde los astrocitos inmunorreactivos con este transportador envuelven las sinapsis glicinérgicas (6). Ambos transportadores comparten aproximadamente un 50% de identidad de secuencia de aminoácidos, pero difieren en la distribución de tejidos, la función y la farmacología (32), estudios indican que el GLYT1 neuronal tiene una distribución óptima para regular la unión de la glicina a los receptores NMDA, mientras que GLYT2 y el GLYT1 glial están mejor situados para participar en neurotransmisiones glicinérgicas inhibitorias (6), las funciones principales de los GlyT1 'gliales' son (i) eliminar la glicina de las sinapsis glicinérgicas inhibitorias, no solo en el tronco encefálico y la médula espinal donde la transmisión glicinérgica es abundante, sino también en regiones, como el hipocampo (ii) para modular los niveles de glicina extracelular en los receptores NMDA. En cuanto a GlyT2s, proporcionan glicina al citosol de las terminales glicinérgicas para reponer las vesículas sinápticas a través de los transportadores de aminoácidos inhibitorios vesiculares (VIAAT). (32). La capacidad de este transportador de aminoácidos inhibitorio vesicular (VIAAT) para transportar GABA o glicina puede depender de la concentración extravesicular relativa de los dos aminoácidos. Efectivamente, la glicina inhibe la captación de GABA y viceversa (18).

El mecanismo de captación de glicina mediada por GlyTs se acopla energéticamente al gradiente de sodio transmembrana mantenido por la bomba de Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> - ATPase (19). La unión al sustrato (sodio, cloruro y glicina) induce un cambio conformacional en los GlyT que cambia los transportadores de un " exterior " a una " interior " frente al estado. Después de eso, el sitio de unión a la glicina se expone al citosol y libera sodio, cloruro y glicina (27).

El conocimiento actual de los GlyT indica un papel importante en varios trastornos como la epilepsia, hiperekplexia, dolor neuropático, adicción a las drogas, esquizofrenia, accidente cerebrovascular y trastornos neurodegenerativos (27).

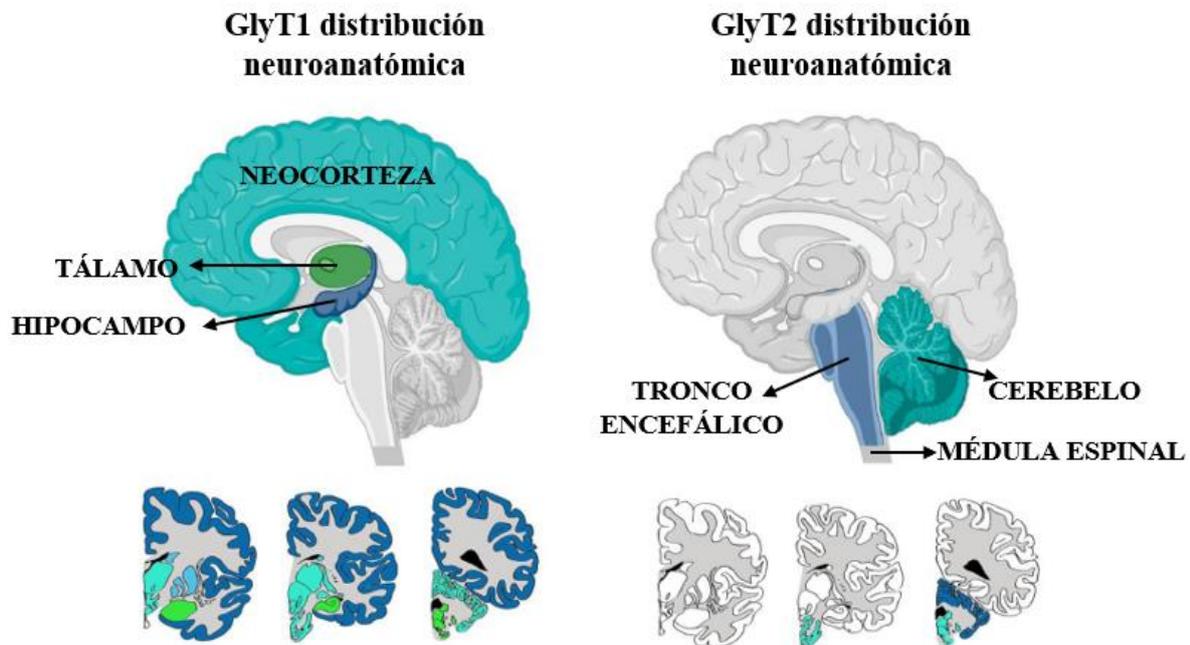
### 5.2.3.1 *GlyT1*

La mayor parte del transporte de glicina de alta afinidad en los astrocitos y en el cerebro lo realiza GlyT1. Pertenece a la familia de transportadores SLC6 que incluye Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> cotransportadores dependientes de neurotransmisores, osmolitos y aminoácidos (14). GlyT1 se expresa abundantemente en el SNC. El transportador se puede encontrar en regiones del cerebro que se sabe que carecen de transmisión glicinérgica como el diencéfalo, el bulbo olfatorio y la corteza. La expresión de GlyT1 se observa predominantemente en las células gliales y en los elementos neuronales de todo el cerebro, donde está estrechamente asociada con las vías glutamatérgicas. En las neuronas glutamatérgicas, se encuentra en el botón presináptico, así como un componente principal de la densidad postsináptica (16). Su función esencial en estas sinapsis es reducir la concentración de glicina extracelular, como se muestra en ratones deficientes en GlyT1. Anticuerpos desarrollados posteriormente permitieron la detección de la inmunoreactividad de GlyT1 no solo en astrocitos sino también en elementos neuronales, principalmente en terminales glutamatérgicos a lo largo del prosencéfalo (28). La captación de glicina dependiente de GlyT1 es un proceso electroquímico acoplado al movimiento de iones de sodio y cloruro, con una estequiometría de 1 Gly / 2 Na<sup>+</sup> / 1 Cl<sup>-</sup>, que en condiciones despolarizantes podrían revertirse, permitiendo la salida de glicina, ya sea de las células gliales o de las neuronas (28) permitiendo un transporte bidireccional, apropiado para la regulación de las concentraciones de glicina en la hendidura sináptica (16). El GlyT tipo 1 robusto (GlyT1) se expresa y colocaliza con receptores de *N*-metil-*D*-aspartato (NMDAR), el bloqueo de GlyT1 de alta afinidad modula las respuestas mediadas por NMDAR y la potenciación a largo plazo (LTP) al aumentar los niveles de glicina extracelular (31).

### 5.2.3.2 *GlyT2*

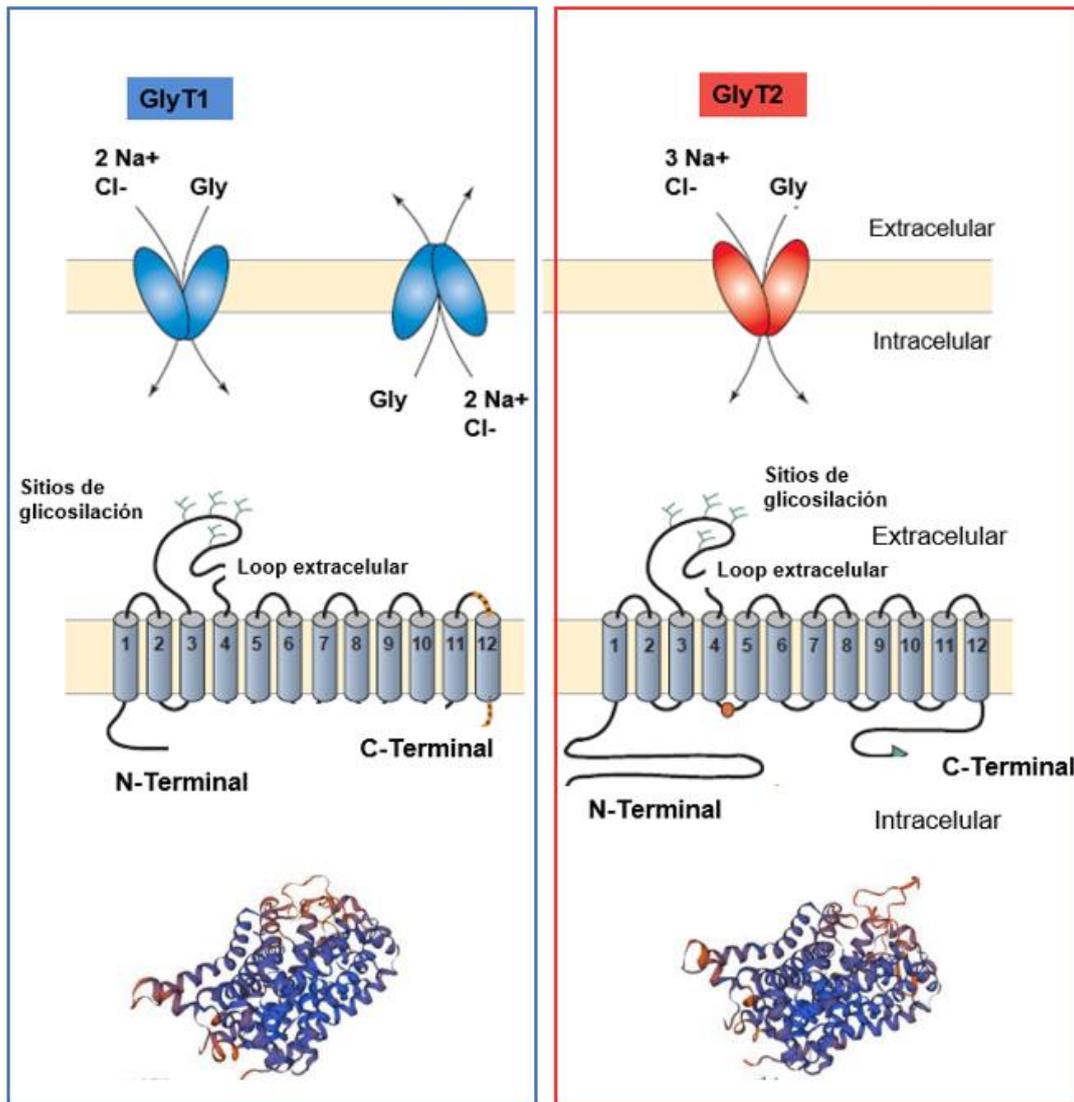
La proteína GlyT2 a menudo se expresa cerca de los receptores de glicina sensibles a estricnina (GlyR) (33) se encuentra predominantemente en neuronas del tronco encefálico y de la médula espinal, es decir, regiones ricas en sinapsis glicinérgicas (34). Predominantemente en axones y terminales presinápticas en neuronas glicinérgicas (5). Se localiza en terminales presinápticas adyacentes a las zonas activas y especializaciones de la membrana glicinérgica opuesta de la neurona postsináptica (16), por lo tanto se ha sostenido que tiene un papel en la eliminación de glicina de la hendidura sináptica (5). En un estudio la mayoría (70 a 75%) de GFP-GLYT2 se localiza intracelular, solo el 5-10% del GLYT2 total se encontraba en la membrana plasmática (33). Los GLYT2 tienen una estequiometría de  $3\text{Na}^+ / \text{Cl}^-$  /glicina (32), favoreciendo el mantenimiento de un gradiente de concentración de glicina elevado. a lo largo de la membrana presináptica (30) generando grandes aumentos en el  $\text{Na}^+$  intracelular que la bomba de  $\text{Na}^+ / \text{K}^+$ -ATPasa debe reducir de manera eficiente para preservar la homeostasis iónica, que es absolutamente necesaria para la transmisión sináptica y la excitabilidad neuronal (35).

Este transportador cumple dos funciones. (I) transporta glicina desde la hendidura sináptica de regreso al citoplasma de las neuronas glicinérgicas para terminar la señal sináptica y (II) acumula glicina al nivel requerido para la carga de vesículas presinápticas a través del transportador vesicular de GABA (vGAT), también conocido como transportador de aminoácidos inhibitor vesicular (VIAAT) (36).



**Figura 3. Distribución neuroanatómica de los transportadores de glicina tipo 1 y 2.**

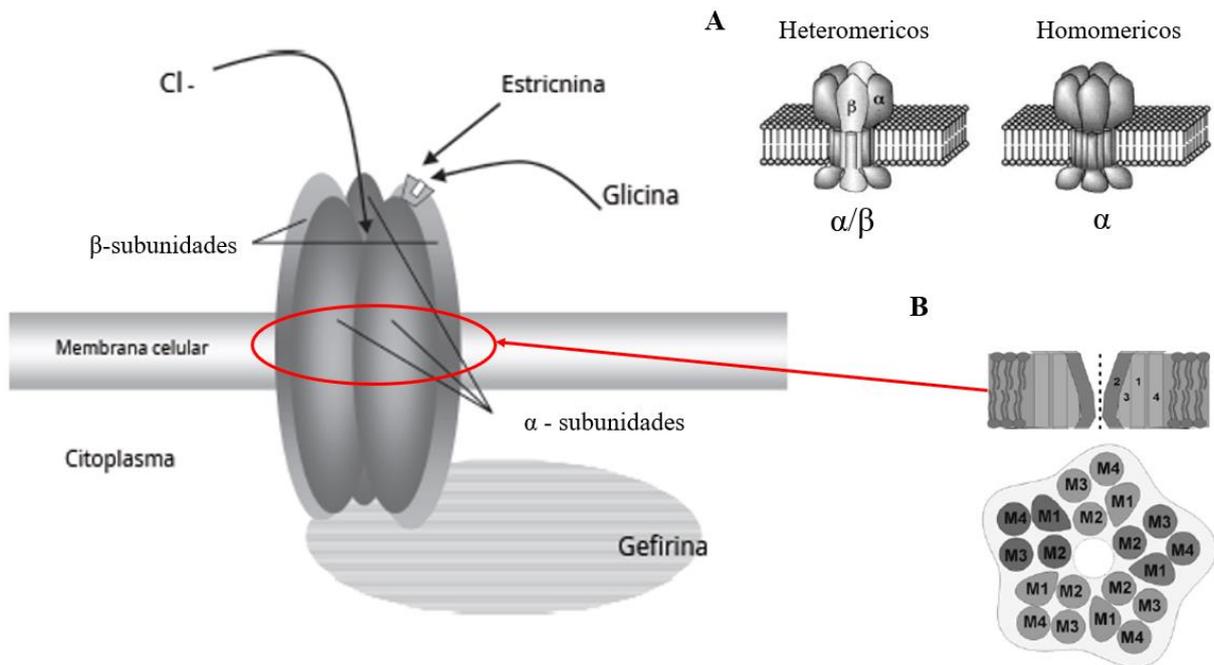
La figura muestra estructuras coloreadas para demostrar áreas en las que la expresión del transportador respectivo es abundante, mientras que las estructuras grises muestran áreas en las que la expresión es baja. El transportador de glicina tipo 1 (GlyT1) se expresa abundantemente en la neocorteza, el tálamo y el hipocampo, mientras que el transportador de glicina tipo 2 (GlyT2) se expresa notablemente en el tronco encefálico, la médula espinal y el cerebelo (27). Tomada y adaptada de (Marques, B). 2020 (27).



**Figura 4. Topología de membrana y estructura molecular de transportadores de glicina.** La figura muestra una representación esquemática de la topología de membrana GlyT1 y GlyT2 caracterizada por 12 dominios transmembrana conectados con seis bucles extracelulares hidrofílicos entre los dominios hidrofóbicos 1-2, 3-4, 5-6, 7-8, 9-10 y 11-12. Estas proteínas muestran cinco bucles intracelulares entre los dominios hidrofóbicos 2-3, 4-5, 6-7, 8-9 y 10-11. Ambas proteínas están N-glicosiladas de forma múltiple dentro de un gran bucle extracelular que conecta los dominios transmembrana 3 y 4 (27). Elaboración propia (Cordova, A). 2022.

#### 5.2.4 Receptores de glicina

El receptor de glicina (GlyR) constituye la superfamilia de receptores de canales iónicos activados por ligando de bucle Cys. El término Cysloop se refiere a un bucle extracelular común mediado por disulfuro (16), median la transmisión sináptica rápida en el tronco del encéfalo y la médula espinal (37), a su vez los GlyR funcionales también están presentes en muchas regiones del cerebro maduro y en desarrollo, incluido el hipocampo, donde se expresan mediante células piramidales e interneuronas CA1 (31). Los LGICs presentan una organización conservada en la que cinco subunidades proteicas se arreglan de manera simétrica alrededor de un canal iónico central (26). GlyR tiene una arquitectura pLGIC conservada que consta de un dominio extracelular (ECD), un dominio transmembrana (TMD) y un dominio intracelular (ICD) (Figura 5B). El ECD alberga el bolsillo de unión del neurotransmisor y el TMD gobierna la maquinaria para la permeación selectiva de iones. El ICD es importante para el tráfico de receptores, la agrupación sináptica y un sitio central para las modificaciones postraduccionales y la regulación por moduladores endógenos y exógenos (22). La glicina liberada de las interneuronas inhibitoras glicinérgicas por exocitosis dependiente de calcio de vesículas sinápticas que contienen glicina se une al sitio de unión de glicina A sensible a estriocina en los receptores de glicina. Estos canales de aniones activados por ligandos promueven los flujos de iones cloruro hacia las neuronas postsinápticas, lo que resulta en la generación de potenciales postsinápticos inhibidores (14).



**Figura 5. Diagrama esquemático de la estructura del receptor de glicina.** El receptor se compone de subunidades β, subunidades α (A) y de la proteína de anclaje gefirina en donde la estircina funciona como un antagonista del receptor. Dominio transmembrana (TMD) (B). Tomado y adaptado de Gundersen, RY. (2005)(8),(18), (38).

Después de la unión del ligando, el receptor sufre un cambio conformacional que se transmite a las regiones transmembrana del receptor, lo que da como resultado la apertura del poro del canal(37) aniónico integral GlyR y el influjo resultante de iones Cl hiperpolariza la célula postsináptica, inhibiendo así la activación neuronal (39). Se encontró que GlyR purificado por afinidad contenía dos proteínas de membrana integral glicosiladas de 48 kDa y 56 kDa, correspondientes a α y β subunidades, respectivamente (18). Se ha confirmado la existencia de cinco subunidades GlyR diferentes, cuatro α (1-4) subunidades y una subunidad β (40) ensambladas como compuestos solo por subunidades α (homoméricos) o pueden ser receptores heteroméricos compuestos por subunidades α y β (36) (Figura 5A). Hasta el momento, se han identificado cuatro genes que codifican para distintas isoformas de la subunidad

$\alpha$  ( $\alpha 1$ - $\alpha 4$ ) y un solo gen que lo hace para la  $\beta$ . La combinación de las distintas isoformas de la subunidad  $\alpha$  con la  $\beta$  tiene como resultado la expresión de GlyRs que son modulados por compuestos distintos y que poseen propiedades cinéticas diferentes (41), la subunidad  $\alpha$  es la subunidad de unión al ligando, mientras que la subunidad  $\beta$  se une al andamio de gefirina sináptica que consta de decenas a cientos de gefirinas (42). Se considera que los GlyR consisten principalmente en heterómeros  $\alpha 1\beta$  en la médula espinal madura y el tronco encefálico, mientras que en el sistema nervioso fetal / neonatal, se sugiere que predominan los GlyR homoméricos de la subunidad  $\alpha 2$  (43). La composición de la subunidad determina las propiedades funcionales, así como la ubicación de los GlyR (40).

### **5.3 OTROS MIEMBROS DE IMPORTANCIA DE LA FAMILIA DE LOS RECEPTORES ACTIVADOS POR LIGANDO (LGIC) (GABA, NMDA y P2X).**

#### **5.3.1 Características generales.**

La transmisión sináptica rápida depende de la conversión de la liberación de neurotransmisores químicos presinápticos en señales eléctricas postsinápticas. Este proceso está mediado por proteínas de canal receptoras selectivas de iones. Entre estas proteínas de canal iónico se encuentran los miembros de la superfamilia de receptores nicotínicos-like ligantes (LGIC), que comprende un grupo de receptores con un canal iónico intrínseco que se abre tras la unión de un ligando extracelular (44). La llegada de una señal eléctrica al terminal sináptico de un nervio provoca la liberación de una señal química: una molécula neurotransmisora (el ligando, también denominado agonista). El neurotransmisor se difunde rápidamente a través del estrecho espacio sináptico de 20-40 nm entre las células y se une al LGIC en la membrana de la célula objetivo (postsináptica) y genera una nueva señal eléctrica en esa célula. La forma en que esta señal química se convierte en eléctrica depende de las propiedades fundamentales de los LGIC (38). Abarcan las membranas bicapas lipídicas de 3 nm de las células nerviosas o musculares (38) y se clasifican en superfamilias: *familia de bucle Cys* que incluye los receptores nicotínicos de acetilcolina, serotonina 5-HT<sub>3</sub>, GABA<sub>A</sub> y glicina, y *la familia*

*del receptor ionotrópico de glutamato* compuesta por tres subtipos principales de receptores: N-metil-D-aspartato (NMDAR), el receptor de kainato (KAR) y el ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4- isoxazolpropiónico (AMPA) (45). La familia nAChR y las familias GABA A y GlyR sugieren gestos de que los mecanismos de activación del canal pueden ser diferentes entre estas familias: Primero, el nAChR es un cambio de cationes, mientras que los últimos son canales aniónicos. En segundo lugar, la lisina residuo que está altamente conservado dentro del enlazador TM2–3 en GABA<sub>A</sub>-R y GlyR está ausente en la familia nAChR. Esta lisina conservada es un componente importante de un pro-mecanismo de acoplamiento electrostático planteado (46).

Los LGIC pentaméricos, o receptores de bucle Cys, están compuestos por cinco subunidades homólogas, que comparten una organización estructural común, dispuestas (pseudo) simétricamente alrededor del poro iónico central (47). Cada una de las subunidades de los receptores LGIC comparte una topología común compuesta por un gran dominio extracelular y cuatro dominios transmembrana (M1-M4). El bolsillo de unión al ligando está formado por estructuras dentro del dominio extracelular (44). Los receptores de glutamato ionotrópicos (iGluR) median las respuestas sinápticas rápidas (48) y son una familia de canales iónicos que se ensamblan como tetrámeros que consisten en cuatro subunidades entrelazadas que forman un canal catiónico no selectivo. Cada subunidad comprende un dominio amino terminal extracelular (ATD), un dominio de unión a ligando (LBD), un dominio transmembrana formador de poros común (TMD) y un dominio C terminal intracelular (CTD) (49).

Se reconocen cuatro tipos de receptores que pueden unirse a Gly. Estos incluyen el receptor de glicina específico (GlyR), el receptor de glutamato ionotrópico que se une específicamente al N-metil D aspartato (NMDAR) y también los receptores ionotrópicos de  $\gamma$  ácido aminobutírico (10) (Tabla 1).

**Tabla 1. Funciones principales de los receptores LGICs de unión a glicina**

<b>Receptor</b>	<b>Función principal</b>
Gly-R	En la médula espinal y el tronco encefálico adultos, controla las vías motoras y sensoriales (50). La unión de glicina al GlyR genera su apertura resultando en el influjo de iones Cl <sup>-</sup> a través del poro del canal hiperpolarizando la membrana postsináptica e inhibiendo de ese modo la excitabilidad neuronal (26).
NMDA-R	Plasticidad neuronal, y participación en la excitotoxicidad (51).
GABA-R	En la membrana postsináptica median la inhibición neuronal que ocurre en el rango de tiempo de milisegundos; los que se encuentran en la membrana extrasináptica responden al GABA ambiental y confieren inhibición a largo plazo (52).

Fuente: Elaboración propia (2022).

### **5.3.2 Receptor GABA**

GABA ( $\gamma$ -ácido aminobutírico) es el principal neurotransmisor inhibitor del sistema nervioso central (SNC) de los vertebrados. El efecto inhibitor de GABA está mediado por GABA A o por el receptor GABA metabotrópico B. Los Receptores ionotrópicos GABA tipo A son de acción rápida, mientras que GABA metabotrópico B se acoplan indirectamente a través de proteínas G a los canales de calcio o potasio para producir respuestas inhibitorias lentas y prolongadas. Acerca de  $20 \pm 50\%$  de todas las sinapsis neuronales utilizan GABA en el SNC: ácido  $\gamma$ -aminobutírico como transmisor (53) , en terminales activos, el GABA se sintetiza a partir del glutamato por dos isoformas de la enzima glutamato descarboxilasa (54).

La mayoría de los GABA nativos en el cerebro muestran una estequiometría de dos subunidades  $\alpha$  (1-6), dos  $\beta$  (1-4) y una subunidad  $\gamma$ . Un receptor GABA<sub>A</sub> compuesto de  $\alpha 1$ ,  $\beta 2$  y  $\gamma 2$  en una proporción de 2: 2: 1 es el tipo de receptor nativo más común (53). Los receptores GABA<sub>A</sub> (receptores de tipo A del

ácido gamma-aminobutírico) (20) son los principales receptores neurotransmisores inhibidores en el cerebro de los mamíferos (52), tienen una gran complejidad molecular debido a sus múltiples isoformas, lo cual permite modular la neurotransmisión del GABA de manera refinada. (20)

### **5.3.3 Receptor NMDA**

Los NMDAR son complejos heteroméricos que consisten en subunidades NR1, NR2A-D y NR3A-B en el SNC. NR2A y NR2B se expresan de manera prominente en el hipocampo y desempeñan diferentes funciones en TI (tolerancia isquémica), determinando la dirección de la plasticidad sináptica y confiriendo resistencia contra la muerte neuronal. El NMDAR sináptico que contiene NR2A, pero no el NMDAR extrasináptico que contiene NR2B está involucrado en la neuroprotección (1).

La familia de los receptores NMDA está formada por tres subunidades diferentes denominadas GluN1-3 que tienen un nivel significativo de homología y están muy relacionadas en estructura, con una organización de dominios conservada. Un dominio aminoterminal extracelular (ATD) está unido a un dominio extracelular de unión al ligando (LBD), que a su vez está conectado a un dominio transmembrana (MD) formando el canal iónico. Las hélices transmembrana se comunican con un dominio intracelular carboxi-terminal (CTD) (51). Corresponde a uno de los tres receptores capaces de reconocer el glutamato. El receptor NMDA es un tetrámero y se ha descrito en asociación con varias proteínas, incluyendo proteínas de andamiaje, péptidas y reguladoras de la señalización. Siete genes codifican las subunidades del NMDAR. El NMDAR activado es permeable a cationes monovalentes y divalentes, como el sodio potasio y calcio, respectivamente (45). La activación de los receptores NMDA compuestos por GluN1/GluN2 requiere dos moléculas de coagonista glicina y dos moléculas de agonista glutamato. Los receptores NMDA compuestos por GluN1/GluN3 requieren sólo glicina para activación (51).

### 5.3.4 Receptor P2X

Los canales P2X pertenecen a la superfamilia de los glutamatos LGIC, tienen siete miembros: P2X1 a P2X7 (45). Cada miembro de la familia de purinas P2X consta de subunidades (55), a saber, dominios transmembrana que forman el poro del canal y un segmento intracelular (dominio intracelular, dominio transmembrana) y un dominio extracelular, implicado en el reconocimiento del agonista endógeno (45). Los receptores triméricos P2X, son activados por el ATP extracelular, están implicados en una amplia gama de procesos fisiológicos y patológicos, incluida la sensación de dolor, la inflamación, el gusto, la modulación de la liberación de neurotransmisores (56) y en enfermedades neurológicas (como la depresión y Alzheimer) (55). Aunque el ATP es el agonista endógeno de los receptores P2X, éstos pueden ser modulados alostéricamente por varios otros motivos y también por cambios de temperatura, fuerza iónica, glicosilación, fosforilación del receptor. Los canales P2X permean iones  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  y excepcionalmente  $\text{Cl}^-$  (45).



**Figura 6. Estructura general de los LGIC.** Todos los LGIC comparten estructuras de proteínas similares, la variabilidad en los subtipos se relaciona con su poro central con una afinidad diferente por cationes/aniones específicos. Las estructuras LGIC son proteínas transmembrana pentaméricas (57). Tomada y adaptada de (Galaz, P). 2015 (45).

## 6 ROL DE LA GLICINA EN ISQUEMIA CEREBRAL:

Algunos estudios sugieren que la glicina puede contribuir al desarrollo de lesión isquémica, mientras que otros estudios proponen el efecto neuroprotector de la glicina. (58). El concepto de neuroprotección se refiere a cualquier enfoque farmacológico o intervencionista que mitigue o bloquee los eventos celulares y moleculares nocivos que conducen a una isquemia cerebral irreversible (59). A su vez la tolerancia isquémica se refiere a la protección cerebral inducida por su exposición previa a varios estímulos que reduce la vulnerabilidad neuronal a un insulto isquémico posterior (60).

La tolerancia isquémica se demostró por primera vez en 1990 para proteger las neuronas del hipocampo de los jerbos, y ahora es un fenómeno bien establecido *in vitro*, *in vivo* y en entornos clínicos (61).

La isquemia es un proceso que impide el suministro de glucosa y de oxígeno al cerebro. Ambos hechos tienen una ingente cantidad de consecuencias en el metabolismo y otros muchos procesos. Lo más evidente es una disminución muy drástica en la producción de energía en forma de trifosfato de adenosina (ATP), tanto por la vía glucolítica como por la aerobia. La parada de actividad de la  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPasa}$  colapsa los gradientes de  $\text{Na}^+$  y de  $\text{K}^+$  a través de la membrana plasmática de las neuronas y de las células gliales (62).

Durante la isquemia ocurren múltiples eventos, en gran parte como consecuencia del agotamiento de la energía; de importancia crítica son las redistribuciones transmembrana de diferentes iones, especialmente sodio, potasio y calcio (63) donde la isquemia provoca la liberación rápida de varios neurotransmisores de aminoácidos, incluida la glicina. En la isquemia, el metabolismo oxidativo cambia a la glucólisis anaeróbica debido a la falta de oxígeno y glucosa, en donde las neuronas se despolarizan repentinamente. Este evento se acompaña de un aumento de la concentración de  $\text{K}^+$  extracelular, una disminución de los niveles de  $\text{Na}^+$  extracelular y una liberación masiva de glutamato (5).

## **6.1 Angiogénesis e isquemia/ reperfusión.**

La angiogénesis es un proceso complejo de varios pasos. La angiogénesis es un proceso biológico en el que nuevos vasos sanguíneos capilares crecen a partir de vasculatura preexistente, aportando oxígeno y nutrientes a los tejidos. (64). Puede regularse mediante la producción equilibrada de factores inhibidores y de crecimiento en tejidos sanos (65).

### **6.1.1 Factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF)**

VEGF juega un papel importante en la angiogénesis patológica, induciendo el desarrollo y la progresión de ciertas condiciones patológicas, tales como: crecimiento y metástasis tumorales, retinopatía diabética, procesos inflamatorios, procesos isquémicos (isquemia miocárdica), preeclampsia, etc. El gen VEGF humano es parte de la familia de genes VEGF/factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), también llamada superfamilia de factores de crecimiento del nudo de cistina. Desde un punto de vista estructural, VEGF es una glicoproteína heterodimérica de 40 kDa, caracterizado por la disposición de ciertos puentes bisulfídicos en la estructura de la proteína (66). La familia VEGF se divide en cinco miembros que tienen una estructura de homodímero: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D y factor de crecimiento placentario (PlGF). Estos péptidos están codificados por genes individuales. VEGF-A generalmente se denomina VEGF, porque VEGF-A es un regulador clave de la vasculogénesis del desarrollo, la angiogénesis y la diferenciación de las células endoteliales progenitoras. (67).

VEGF se une a los receptores de tirosina quinasa, que presentan tres dominios: un dominio extracelular para la unión de VEGF, un dominio transmembrana y un dominio intracelular con actividad de tirosina quinasa, al unirse al dominio del receptor extracelular, promueve la activación de la enzima tirosina quinasa en el dominio del receptor intracelular, que fosforila los residuos de tirosina, activando así varias vías de señalización intracelular (Figura 7).

Hay tres tipos de receptores de VEGF: VEGFR-1, VEGFR-2 y VEGFR-3 (66). Todos los subtipos poseen siete dominios similares a inmunoglobulinas en la región extracelular y un dominio de tirosina quinasa en la región intracelular (Figura 7). VEGFR-1 y VEGFR-2 son tirosina quinasa receptoras de superficie celular (RTK), que se localizan en las células endoteliales durante el desarrollo embriogénico. VEGF RTK son receptores transmembrana de un solo paso que poseen actividad enzimática citoplasmática intrínseca, catalizando la transferencia de gamma-fosfato de ATP a residuos de tirosina en sustratos proteicos. Los VEGF RTK, miembros de una gran familia de RTK, son componentes esenciales de las vías de transducción de señales que afectan la proliferación, diferenciación, migración y metabolismo celular. La activación de los RTK de VEGF se produce mediante la unión de ligandos, lo que facilita la dimerización del receptor y la autofosforilación de los residuos de tirosina en la porción citoplásmica. Los residuos de fosfotirosina mejoran la actividad catalítica del receptor o proporcionan sitios de acoplamiento para las proteínas de señalización aguas abajo (68).

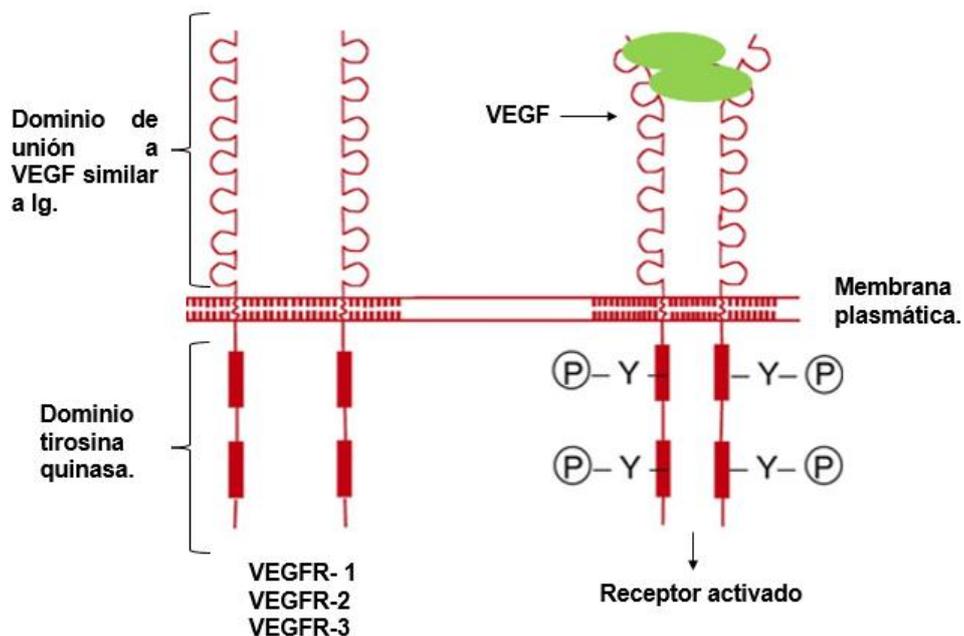
Algunas células tumorales expresan VEGFR-1 y VEGFR-2. VEGFR-1 también se expresa en monocitos y macrófagos. Por el contrario, la expresión de VEGFR-3 está restringida en gran medida a las células endoteliales linfáticas. Estos miembros de VEGF tienen diferentes afinidades por uno de los tres subtipos de VEGFR. VEGF-A activa VEGFR-1 y VEGFR-2, mientras que VEGF-B y PlGF se unen solo a VEGFR-1. VEGF-C y VEGF-D se unen solo a VEGFR-3 (67). Estos receptores funcionan como moléculas de señalización durante el desarrollo vascular.

Los patrones coordinados de expresión de los genes de VEGF y sus receptores sugieren que estas proteínas participan en el desarrollo vascular durante la embriogénesis (68). Se ha demostrado que varios factores de crecimiento inducen la expresión del gen VEGF, factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de necrosis tumoral (TNF), factor de crecimiento transformante e interleucina-1. Otro inductor de VEGF es la hipoxia.

La inducción hipóxica de VEGF parece ser una respuesta omnipresente, ya que se ha observado que una amplia gama de células cultivadas que aumentan los niveles de ARNm de VEGF en aproximadamente 10 a 50 veces en respuesta a la reducción de los niveles de oxígeno del ambiente del 21 % al 0-3 %. Se observa una inducción similar de

VEGF en respuesta a la hipoxia in vivo; la oclusión de las arterias coronarias induce isquemia y una rápida inducción de la expresión del ARNm de VEGF en corazones porcinos (69).

VEGF, la proteína angiogénica de acción directa más potente conocida es un factor angiogénico y mitógeno específico de células endoteliales difusible que también aumenta la permeabilidad vascular. Provoca una respuesta angiogénica pronunciada en una variedad de modelos in vivo. La supervivencia de las células endoteliales en los vasos recién formados depende del VEGF. La sobreproducción de VEGF se ha identificado como un factor importante subyacente a la angiogénesis patológica in vivo en condiciones como la psoriasis, la degeneración macular y la proliferación tumoral. La transformación maligna de células cultivadas a menudo da como resultado una inducción de la expresión de VEGF (68).



**Figura 7. Estructura representativa de los receptores de tirosina quinasa del factor vascular.** La familia de receptores VEGF está representada por siete asas similares a la inmunoglobulina en el dominio extracelular, que se une a VEGF. Dos receptores VEGF forman un dímero para activar la autofosforilación de los residuos de tirosina en el dominio citoplasmático. Ig = inmunoglobulina; VEGF = factor de crecimiento endotelial vascular; Y- = residuos de tirosina fosforilada. Tomada de (McMahon, G). 2000 (68).

### 6.1.2 STAT 3

STAT-3 se identificó como un factor de transcripción de ADN unido a un elemento sensible a la interleucina-6 en la región promotora de los genes de la fase aguda hepática en respuesta a la IL-6. Además, se identificó como una proteína de unión al ADN que se expresó en respuesta a la respuesta del factor de crecimiento epidérmico. El gen específico para codificar STAT-3 está ubicado en el brazo largo del cromosoma 17 en la posición 21 (17q21). Este gen específico codifica una proteína compuesta por 770 aminoácidos con un peso molecular de hasta 92 kDa. Esta estructura de proteína se puede dividir en dominio de unión al ADN, dominio de bobina enrollada (CCD), dominio N-terminal (NTD), dominio C-terminal (CTD), también llamado dominio de transactivación, y dominio SH2. La serina y la tirosina están presentes en las posiciones de los residuos 727 y 705 respectivamente en el dominio de transactivación o C-terminal citosólico. Estos residuos sufren fosforilación después de la activación de STAT-3 por citoquinas y factores de crecimiento que constituyen el Factor de Crecimiento Epitelial (EGF), Factores de Crecimiento Derivados de Plaquetas (PDGF), IL-6 entre otros (70).

Los receptores del factor de crecimiento activados Janus quinasas (JAK) o la tirosina quinasa Src provocan la activación de STAT3 que comienza con la fosforilación de un residuo de tirosina crítico (Tyr705) en su dominio de homología 2 de Src (SH2). Tras la activación, STAT3 forma dímeros a través de una interacción recíproca de fosfotirosina (pTyr705): dominio SH2 que se transloca al núcleo donde los dímeros se unen a los promotores de los genes diana y activan la expresión de genes específicos. Las JAK activadas fosforilan los residuos de serina de STAT-3 en la posición 727. La actividad transcripcional de STAT-3 está modulada por la fosforilación del residuo de serina en la posición 727 de muchas proteínas (70).

STAT-3 es esencial para muchas vías de señalización interconectadas. La actividad mejorada de STAT-3 en el cáncer puede deberse al exceso de factores de crecimiento y citocinas de la familia IL6 en el microambiente del cáncer. La activación o secreción de STAT-3 de agentes inflamatorios se produce por activación de protooncogenes, genes

supresores de tumores, reordenamiento cromosómico y otras alteraciones genómicas en las células tumorales (70).

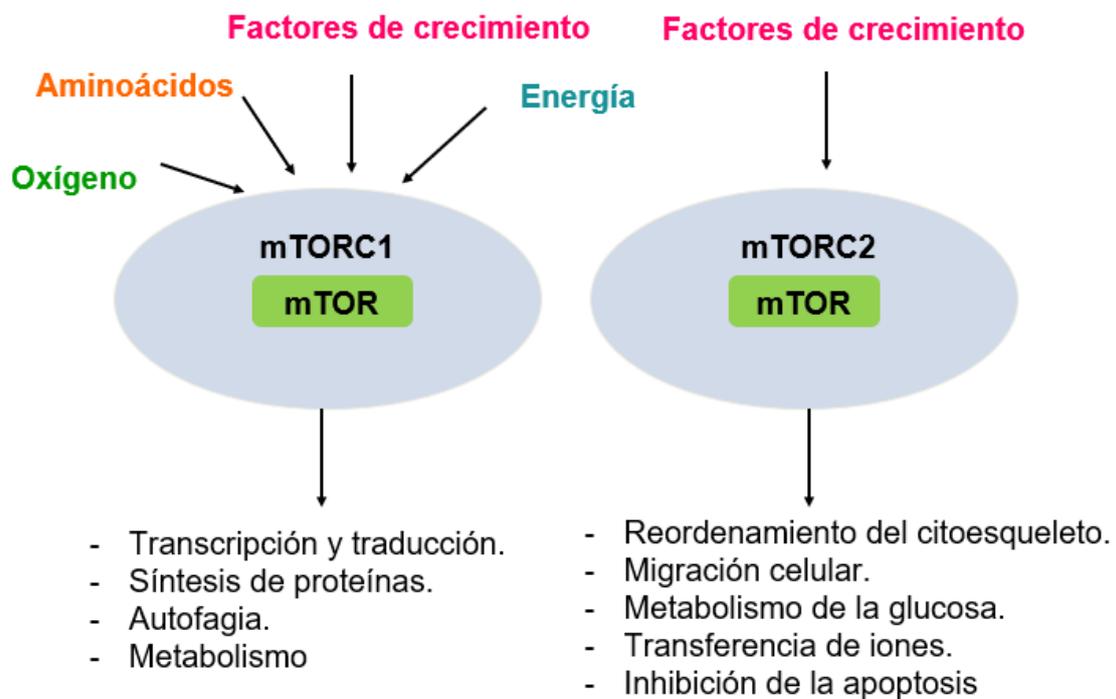
### 6.1.3 MTOR

El objetivo mecánico de la rapamicina (mTOR) o Mammalian/mechanistic target of rapamycin (mTOR) (71) es una proteína quinasa de doble especificidad que fosforila la serina/treonina, así como los residuos de tirosina. Dado que el dominio catalítico de mTOR se asemeja al de las quinasas lipídicas como la fosfoinositida 3-quinasa (PI3K), mTOR se considera una proteína quinasa atípica que pertenece a la familia de quinasas relacionadas con PI3K (72), se descubrió como un objetivo directo del complejo rapamicina-FKBP12 (proteína de unión a FK506 de 12 kDa) en células de mamíferos (70), es una gran proteína multidominio que existe en dos complejos multiproteicos distintos : mTORC1 y mTORC2 (71). Controla varios aspectos importantes de la función de las células de mamíferos. Su actividad está modulada por diversos factores intra y extracelulares, y la tarea de mTOR es comprobar si los recursos intracelulares y la salud de la célula son suficientes para responder a los estímulos extracelulares. Se demostró que mTOR es fundamental para formas de plasticidad neuronal como la potenciación a largo plazo (LTP), la depresión a largo plazo (LTD) y el aprendizaje y la memoria. Poco después, se demostró que mTOR era fundamental para la supervivencia, la diferenciación y la morfogénesis celular (71).

En una célula normal, mTOR recibe varios estímulos ambientales de aminoácidos, factores de crecimiento, oxígeno, estrés, sensores redox y energía. En respuesta a estas diversas señales ambientales, el mTOR activo promueve el anabolismo celular para generar varias macromoléculas como ácidos nucleicos, proteínas, lípidos que construyen biomasa celular, biogénesis de ribosomas y traducción de proteínas. mTOR también bloquea los procesos catabólicos, incluida la biogénesis de los lisosomas y la autofagia, y es un regulador maestro del metabolismo celular. Integra estos amplios rangos de procesos anabólicos para modular las vías metabólicas para la proliferación, el crecimiento y el metabolismo celular (73).

El cáncer es una enfermedad multifactorial y compleja y se sabe que es la principal causa de muerte humana en todo el mundo. La vía del fosfatidilinositol 3-quinasa

(PI3K)-Akt-mTOR es una de las vías de señalización más desreguladas en el cáncer humano. El mTOR se considera un regulador maestro de esta vía de señalización y hallazgos recientes informaron que el mTOR tiene un papel fundamental en el cáncer humano cuando se activa. Además, a menudo se informa que la señalización de mTOR está hiperactivada en la mayoría de los cánceres humanos están particularmente implicados en la transformación celular, el crecimiento, la supervivencia, etc (73).



**Figura 8. Activación y funciones de ambos complejos mTOR.** El diagrama encapsulado muestra la imagen esquemática de la proteína mTOR y posteriormente en las diversas funciones en las que participan. Elaboración propia (Cordova, A). 2022 (73).

## 6.2 GlyR y GlyT en isquemia

Los GlyR participan en la muerte celular neuronal excitotóxica que ocurre en una variedad de trastornos neurológicos agudos y crónicos (43). De hecho GlyR $\alpha$ 1 puede ser un mediador potencial de la neuroprotección dependiente de la inhibición del transporte de glicina en isquemia (74), a su vez, se ha demostrado que tanto el gen GlyR $\alpha$ 2 como la proteína GlyR $\alpha$ 2 fueron alterados significativamente después del accidente cerebrovascular; en un modelo tMCAO (oclusión de la arteria cerebral media) de accidente cerebrovascular en ratas reveló que los niveles de ARNm de GlyR $\alpha$ 2 se redujeron significativamente después de un día en el grupo MCAO, un efecto que se invirtió notablemente después del tratamiento con Gly (74). Por otro lado, el GlyR $\alpha$ 2 en conjunto con un inhibidor (ciclotiazida) no demostró reducción del volumen de infarto mientras que solo con glicina se atenuaba significativamente el volumen de infarto. Cabe destacar que el tratamiento con dosis bajas de glicina después de la oclusión de la arteria cerebral media (MCAO) presentó efectos neuroprotectores en roedores, reduciendo el volumen del infarto, de la misma forma. GlyR $\alpha$ 2 explica el efecto neuroprotector antiisquémico de Gly. La neuroprotección dependiente de GlyR $\alpha$ 2 se induce tanto en el modelo de accidente cerebrovascular animal MCAO como en el modelo de isquemia celular OGD (74).

En un estudio, se informó por primera vez que la glicina aplicada endógenamente (por NFPS N [3-(4'-fluorofenil)-3-(4'-fenilfenoxi) propil] sarcosina (NFPS)) podría ser un agente neuroprotector eficaz contra *in vivo* isquemia (modelo tMCAO), se demostró claramente que el tratamiento de altas dosis de NFPS (H-NFPS) después de tMCAO podría reducir el tamaño del infarto cerebral. NFPS es un inhibidor de GlyT1 no competitivo (75). La sarcosina un antagonista específico de GlyT1 (31) corresponde a un aminoácido no proteinogénico que se presenta como un producto intermedio en la síntesis y degradación del aminoácido glicina (76). NFPS en alta concentración produjo neuroprotección mediante la reducción del tamaño del infarto, de esta forma la glicina aplicada endógenamente podría ser un agente eficaz contra la isquemia *in vivo* (75).

Se encontró que NFPS indujo un efecto dependiente de la dosis en tMCAO. El NFPS a nivel bajo (0,2 mg/kg) empeoró el estado de isquemia, aumentando notablemente el tamaño total del infarto. Sin embargo, el alto nivel de NFPS (H-NFPS:

6 mg/kg) produjo neuroprotección mediante la reducción del tamaño del infarto. Se considero que era importante determinar si el bloqueo post isquémico de GlyR por H-NFPS podría reducir la muerte neuronal isquémica *in vivo* . El tratamiento con H-NFPS se llevó a cabo en primer lugar junto con estriquina antagonista de GlyR (Stry, 0,42 mg/kg. Se encontró que el volumen del infarto disminuyó significativamente con H-NFPS+stry, lo que indica que la glicina endógena actúa a través de la modulación selectiva de GlyR. Curiosamente, se encontró que la aplicación conjunta del inhibidor de GlyR  $\alpha 1$  sal con H-NFPS puede revertir significativamente la neuroprotección de H-NFPS después de tMCAO. Estos resultados demostraron que, en contraste con su controvertido papel en el modelo de accidente cerebrovascular agudo *in vitro* , GlyR parece desempeñar un papel más crítico en la antiisquemia inducida por NFPS en la isquemia *in vivo*. Sin embargo, se sugirió que el subtipo  $\alpha 1$  de GlyR podría ser un factor dominante en la neuroprotección dependiente de GlyR. Por lo tanto, GlyR  $\alpha 1$  puede contribuir al efecto dependiente de H-NFPS (75).

Otros datos evidencian que la glicina atenuó la lesión hipóxico-isquémica en las neuronas o el sistema nervioso al disminuir la autofagia asociada con la función mitocondrial mediante la regulación de la vía AMPK usando experimentos tanto *in vitro* como *in vivo*. La glicina puede servir como una alternativa más económica y eficaz. Además, será importante identificar la dosis óptima de glicina para mejorar el pronóstico (77).

### **6.3 NMDA en isquemia.**

Los trastornos del sistema nervioso central, incluido el accidente cerebrovascular isquémico, causados por la excitotoxicidad inducida por glutamato podrían tratarse mediante el bloqueo de los receptores NMDA. Sin embargo, la aplicación clínica de los antagonistas de los receptores NMDA no ha tenido éxito. Estudios recientes sugieren que los receptores NMDA que contienen NR2A y NR2B pueden tener diferentes funciones en la epileptogénesis y el accidente cerebrovascular isquémico. También se

demostró que los receptores NMDA sinápticos dominados principalmente por NR2A promueven la supervivencia neuronal a través de la señalización CREB en donde hallazgos sugieren que la fosforilación de CREB y la posterior mejora de la actividad de CRE son necesarias para la inducción de tolerancia isquémica (61).

La proteína de unión al elemento de respuesta al AMP cíclico (CRE) del factor de transcripción (CREB) media diversas respuestas en el sistema nervioso, incluido el aprendizaje, la memoria, la plasticidad neuronal y la supervivencia celular. La fosforilación de la serina-133 en CREB le permite ponerse en contacto con su coactivador, la proteína de unión a CREB/p300, y es necesaria para la activación. La activación de CREB fue un evento crítico en la neuroprotección contra la lesión isquémica y en la tolerancia isquémica (61).

Se ha informado que el tratamiento con dosis bajas de glicina induce una neuroprotección dependiente de CREB, que se asocia a la activación de los receptores NMDA que contienen GluN2A NMDA (27). Este efecto neuroprotector se caracteriza por una disminución de la muerte celular necrótica y apoptótica y se logra mediante la atenuación de la excitotoxicidad (60).

Los receptores NMDA son activados por el glutamato y sus co-agonistas (D-serina o glicina) promoviendo la entrada de  $Ca^{2+}$  en las células. Una sola dosis de NMDA produce precondicionamiento cerebral y efectos neuroprotectores contra la privación de glucosa y  $O_2$ . Un trabajo demostró que el pretratamiento con sarcosina se puede utilizar como estímulo de precondicionamiento en cortes de hipocampo, que promueven una tolerancia isquémica contra la agresión de OGD. La sarcosina es un inhibidor competitivo de GlyT-1, un coagonista del receptor NMDA y un agonista débil de los receptores de glicina. Es bien sabido que los inhibidores de GlyT-1 potencian la respuesta de los receptores NMDA en la neurotransmisión glutamatérgica a través de un aumento del coagonista glicina en la hendidura sináptica. Además, la estimulación de los receptores de glicina presinápticos por altas concentraciones de glicina mejoró la liberación de glutamato, que también puede activar los receptores NMDA. Por tanto, la neuroprotección observada con la sarcosina está estrechamente relacionada con la modulación de la neurotransmisión glutamatérgica y parece estar relacionada con los receptores NMDA (60).

Después de un evento isquémico, la muerte neuronal se desencadena por la liberación descontrolada de glutamato que conduce a la sobreactivación del receptor de *N*-metil - *D*-aspartato sensible al glutamato (NMDAR). Las dosis bajas de glicina mejoran la función de NMDAR, mientras que las dosis altas desencadenan la internalización de NMDAR inducida por glicina (GINI) *in vitro*, datos sugieren que se requiere una entrada externa de  $Ca^{2+}$  a través de la membrana plasmática para que ocurra el GINI (78). Resultados informaron que después de un evento isquémico, *in vivo*, GINI también se produce y proporciona neuroprotección en presencia de un antagonista de GlyT1 (GlyT1-A) (78).

En tales condiciones isquémicas, cuando se antagonizan los GlyT1, la glicina se acumula en la hendidura sináptica, alcanza el "punto de ajuste" y desencadena GINI. Este informe demuestra que GINI ocurre *in vivo*, brinda neuroprotección y preserva la vasculatura cerebral. Curiosamente, se ha demostrado, *in vivo*, que la elevación de la glicina extracelular por bloqueo farmacológico o eliminación genética de GlyT1 dio como resultado una disminución del volumen sistólico y una atenuación de los déficits motores en ratones después de un accidente cerebrovascular isquémico inducido. Esto se observó cuando se administró NFPS 24 h antes del ictus o hasta 10 min después del ictus. También mostraron evidencia de que GINI, *in vivo*, está modulando directamente la subunidad GluN1 de la función del canal NMDAR durante el accidente cerebrovascular isquémico, ya que el efecto de NFPS tanto en el volumen sistólico como en el comportamiento se anula por completo cuando los ratones se infectan focalmente con un vector viral que expresa un no-internalización de la subunidad del receptor GluN1(78).

#### **6.4 Vía VEGF/ STAT 3**

Por otro lado, en lesiones vasculares y arterioesclerosis el tratamiento con glicina redujo significativamente la densidad arterial y se encontró que el re-modelado neurovascular dependiente de GlyRa2 estaba correlacionado con la vía VEGFR2/pSTAT3 debido a que la expresión VEGFR2 como la expresión VEGF

estaban reguladas por el tratamiento con glicina en animales con isquemia. Y VEGFR2 se co-localiza con la expresión pSTAT3 (74). El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) es un potente inductor de la permeabilidad vascular, juega un papel integral en la regulación fisiológica de la función de la barrera vascular y en patologías, que incluyen cáncer, accidente cerebrovascular, enfermedad cardiovascular entre otras. El aumento de la expresión de VEGF promueve la hiperpermeabilidad, el edema y el daño tisular que conducen a la patogenia de enfermedades cardiovasculares, afecciones cerebrovasculares, trastornos de la retina y lesiones pulmonares agudas. Está bien establecido que VEGF envía señales principalmente a través del receptor 2 de VEGF (VEGFR-2; también conocido como KDR) para estimular la activación de STAT3, la dimerización, la translocación nuclear y la unión del ADN para regular la transcripción de genes implicados en la activación endotelial, la inflamación vascular y una variedad de otros procesos biológicos (Figura 9) (79).

El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) induce la angiogénesis y puede usarse para tratar enfermedades isquémicas. Resultados identificaron el papel de la glicina en la angiogénesis utilizando modelos de embriones de pez cebra, sugieren que la glicina ejerce efectos bifásicos dependientes de la dosis sobre el desarrollo vascular, que se basan en GlyTs y GlyRs, y se correlacionan con la expresión de genes VEGF. A bajas concentraciones, la glicina actuó como factor angiogénico. Por el contrario, a altas concentraciones, la glicina indujo antiangiogénesis. Recordando que GlyTs y GlyRs están presentes en varios tipos de células, incluidas las células endoteliales (EC). Se investigó el papel de la glicina exógena en la angiogénesis, en donde en primer lugar, embriones de pez cebra fueron expuestos a glicina en un amplio rango de concentraciones en donde la longitud de los ISV que brotan en embriones tratados con glicina a 10, 100 y 1 mM, se incrementó y alcanzó la posición DLAV (vasos anastomóticos longitudinales dorsales). Estos resultados sugirieron que estas bajas concentraciones de glicina promueven la brotación vascular. Sin embargo, la exposición a glicina 400 mM disminuyó la longitud de los ISV, lo que indica la inhibición de la angiogénesis. De acuerdo con las respuestas angiogénicas a la glicina, la exposición a glicina 10 mM reguló al alza la expresión de VEGF. Aunque la exposición a glicina 400 mM no afectó la expresión de VEGF. (79).

Por otro lado, el control temporal y espacial estrechamente orquestado de la actividad del transductor de señal y activador de la transcripción 3 (STAT3) en las células epiteliales, inmunitarias y del estroma es fundamental para la cicatrización de heridas y la reparación de tejidos (80). Las proteínas transductoras de señales y activadoras de la transcripción (STAT) regulan una amplia gama de funciones celulares, incluidas la proliferación, la diferenciación, la inflamación, la angiogénesis y la apoptosis. La activación de STAT3 se produce mediante la fosforilación del residuo de tirosina. Muchos miembros de la familia STAT son fosforilados por Janus quinasas (JAK), que se activan a través de *trans*-fosforilación después de la multimerización del receptor mediada por ligando (Figura 9). Los informes sobre una variedad de tipos de células tumorales y endoteliales han sugerido miembros de la familia JAK, SRC y la actividad quinasa intrínseca de VEGFR-2 como activadores de STAT3 inducidos por VEGF (81).

STAT3 se identificó como un mediador central de la permeabilidad vascular inducida por VEGF. Es importante mencionar que la angiogénesis tumoral y la aparición del factor de crecimiento endotelial vascular también se deben a la regulación positiva de STAT-3. STAT-3 activado en la mayoría de las células cancerosas tiene un efecto sobre el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). En consecuencia, la regulación a la baja de STAT-3 puede suprimir la aparición de VEGF y reducir la angiogénesis. Se encontró metástasis de carcinoma hepatocelular humano e inhibición del crecimiento mediante el direccionamiento de STAT-3 con oligonucleótidos antisentido (70).

En un estudio se utilizaron tres sistemas modelo (pez cebra, ratones y células endoteliales humanas cultivadas) para investigar el papel de STAT3 en la permeabilidad vascular mediada por la señalización de VEGF y VEGFR-2 en donde la estimulación de VEGF promueve la interacción física de VEGFR-2 y STAT3, como lo demuestran los estudios de inmunoprecipitación que demuestran una asociación de VEGFR-2 total y STAT3 total, así como interacciones dependientes de VEGF entre las formas fosforiladas de VEGFR-2 y STAT3. Además, estudios de inmunofluorescencia demuestran que STAT3 se transloca al núcleo tras la activación mediada por VEGF/VEGFR-2 en células endoteliales de vena umbilical humana (HUVEC). Colectivamente, resultados sugieren que VEGF estimula VEGFR-2 para inducir la

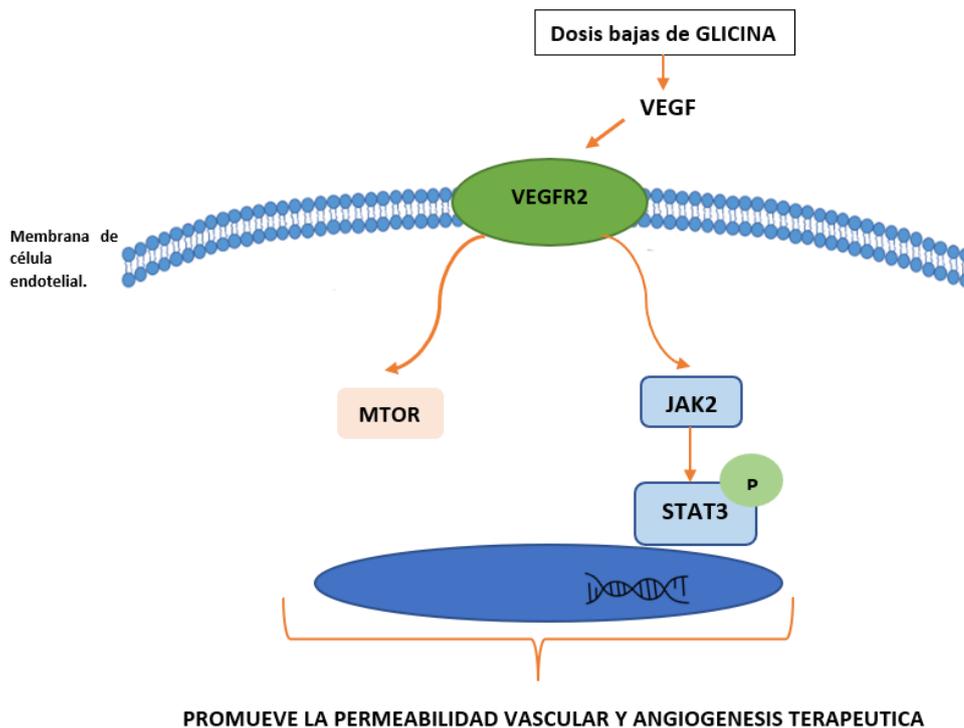
fosforilación de STAT3 y la localización nuclear en células endoteliales humanas. Además, la permeabilidad vascular inducida por VEGF se reduce en el pez cebra con deficiencia de Stat3 en donde datos mostraron una disminución de la permeabilidad vascular inducida por VEGF en el pez cebra Stat3 KO lo que sugiere que las señales de VEGF a través de STAT3 promueven la permeabilidad vascular (81). También ratones knockout para STAT3 específicos del endotelio exhiben una disminución de la permeabilidad vascular inducida por VEGF en donde se observó una extravasación significativamente menor de colorante Evans Blue en STAT3<sup>ECKO</sup> (Pata del ratón en ratones deficientes en STAT3 específicos de células endoteliales) ratones en relación con los controles, lo que sugiere que STAT3 es un transductor importante de la permeabilidad vascular inducida por VEGF.

## **6.5 GlyT1/Glicina/mTOR/canal aniónico dependiente de voltaje 1 (VDAC1)**

La angiogénesis terapéutica restablecería la perfusión sanguínea y rescataría el tejido isquémico. En un estudio el tratamiento con glicina mejoró la neovascularización promoviendo significativamente la recuperación del flujo vascular a partir del tercer día. Además, resultados sugirieron un papel único de los aminoácidos en la señalización de mTOR inducida por VEGF. Resultados originales destacan la glicina como un mediador necesario en la señalización de VEGF a través de la vía del eje GlyT1-glicina-mTOR-VDAC1 (Figura 9) (82).

VEGF activa el GlyT1 en la membrana celular induciendo la entrada de glicina. Una vez en la célula, la glicina se une a la proteína VDAC1 en la membrana mitocondrial externa, inhibiendo su apertura. Al bloquear el canal, la glicina interfiere con la regulación metabólica de iones y nucleótidos y la supervivencia celular al interactuar con las proteínas involucradas en la apoptosis. Además de eso, la glicina mejora la función mitocondrial, aumentando el consumo de oxígeno, reduciendo la producción de ROS y manteniendo estable el potencial de la membrana mitocondrial. (82, 83).

Cabe destacar que la actividad desregulada de mTOR está involucrada en muchas condiciones fisiopatológicas, como el envejecimiento, la enfermedad de Alzheimer, la diabetes, la obesidad y el cáncer. Como inhibidor natural de mTORC1, la rapamicina puede aumentar la esperanza de vida en ratones. La actividad de mTOR está frecuentemente desregulada en una variedad de cánceres humanos, como los carcinomas de mama, próstata, pulmón, hígado y riñón. La regulación positiva de la señalización de mTOR puede promover el crecimiento y la progresión tumoral a través de diversos mecanismos, incluida la promoción de la señalización del receptor del factor de crecimiento, la angiogénesis, el metabolismo glicolítico, el metabolismo de los lípidos, la migración de células cancerosas y la supresión de la autofagia (72).



**Figura 9. Esquematación de las vías involucradas en los efectos de la dosis de glicina en la isquemia.** Receptor de VEGF (VEGFR2), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), Janus quinasa 2 (JAK2), proteína transductora de señal y activadora de la transcripción (STAT3), proteína quinasa (MTOR). Elaboración propia (Cordova, A). 2022.

## 7 CONCLUSIONES

- Para comprender el papel de la glicina en la isquemia es necesario describir la sinapsis glicinérgica y sus diferentes modulaciones para una comprensión más eficaz de las diferentes vías involucradas.
- Esta revisión analiza los datos actualmente disponibles con respecto a los GlyT, GlyR en el SNC y proporciona una descripción detallada de su estructura y función.
- Glicina exhibe efectos metabólicos generales, neuroprotectores y reguladores del sistema nervioso que podrían utilizarse para el tratamiento de infarto cerebral.
- La glicina es capaz de ejercer un efecto neuroprotector dependiente de la dosis a través de sus receptores en donde GlyRa2 puede ser de origen vascular y desempeñar un papel en el tratamiento de la isquemia con glicina, así como también GlyR $\alpha$ 1
- La remodelación neurovascular dependiente de GlyRa2 estaba correlacionada con la vía VEGFR2/pSTAT3.
- NMDA produce precondicionamiento cerebral y efectos neuroprotectores contra la privación de glucosa y O<sub>2</sub> en donde las dosis altas desencadenan la internalización de NMDAR inducida por glicina (GINI) *in vitro*. En donde después de un evento isquémico, *in vivo*, GINI también se produce y proporciona neuroprotección en presencia de un antagonista de GlyT1.
- Resultados originales destacan la glicina como un mediador necesario en la señalización de VEGF a través de la vía del eje GlyT1-glicina-mTOR-VDAC1. En donde VEGF estimula la migración, proliferación y angiogénesis de células endoteliales a través de esta vía.
- La investigación adicional de la función de la glicina en la angiogénesis puede representar nuevos objetivos terapéuticos para el tratamiento de trastornos vasculares angiogénicos y el desarrollo de nuevas dianas terapéuticas centradas en las lesiones post-isquémicas.
- La glicina parece tener un papel activo en la modulación de la angiogénesis. En donde las concentraciones de glicina actúan promoviendo o inhibiendo este proceso.

- La glicina es capaz de proteger las células endoteliales de la apoptosis a través de varios pasos.

## 8 GLOSARIO DE SIGLAS

- **Gly:** Glicina
- **LGICS:** Canales iónicos cerrados por ligando
- **GABA:** Ácido gamma-aminobutírico
- **AMPA:** Ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiónico
- **NMDA:** Receptores N-metil-D-aspartato
- **P2X:** Receptor
- **ECs:** Células endoteliales vasculares
- **GlyR:** Receptor de glicina
- **GlyR  $\alpha 2$ :** Receptor de glicina alfa 2
- **VEGF:** Factor de crecimiento endotelial vascular
- **GlyT1:** Transportador de glicina tipo 1
- **GlyT2:** Transportador de glicina tipo 2
- **SNC:** Sistema nervioso central
- **SHMT:** Serina hidroximetiltransferasa
- **GCS:** Sistema de escisión de glicina
- **GLDC:** Proteína P
- **GCSH:** Proteína H
- **AMT:** Proteína T (aminometil transferasa)
- **DLD:** Proteína L lipoamida deshidrogenasa
- **DIC:** Dominio intracelular
- **PKC:** Proteína kinasa C
- **PKA:** Proteína kinasa A
- **CaMKII:** Calmodulina quinasa II dependiente de calcio
- **SVs:** Vesículas sinápticas.
- **AMPC:** Adenosín monofosfato cíclico
- **DAG:** Diacilglicerol
- **SLC6:** Familia de transportadores de solutos 6
- **VIAAT:** Transportador de aminoácidos inhibidores vesiculares
- **LTP:** Potenciación a largo plazo
- **Cysloop:** Bucle extracelular común mediado por disulfuro

- **CA1:** Interneuronas
- **ECD:** Dominio extracelular
- **TMD:** Dominio transmembrana
- **M1-M4:** Dominios transmembrana
- **ICD:** Dominio intracelular
- **KAR:** Receptor de Kainato
- **iGluR:** Receptores ionotrópicos de glutamato
- **ATD:** Dominio amino terminal extracelular
- **LBD:** Dominio de unión a ligando
- **CTD:** Dominio C terminal intracelular
- **MCAO:** Oclusión de la arteria cerebral media
- **CREB:** Proteína de unión al elemento de respuesta a AMPc
- **mTOR:** Proteína quinasa.
- **VDAC1:** Canal 1 selectivo de aniones dependiente de voltaje
- **OGD:** Privación de oxígeno y glucosa.
- **NFPS:** N [3-(4'-fluorofenil)-3-(4'-fenilfenoxi) propil] sarcosina
- **H-NFPS:** Dosis alta de NFPS
- **AMPK:** Cinasa activada por monofosfato de adenina
- **STAT:** Proteínas transductoras de señales y activadoras de la transcripción
- **ISV:** Vasos intersegmentarios.
- **DLAV:** vasos anastomóticos longitudinales dorsales
- **iVEGF:** Un pez cebra transgénico de VEGF inducible por choque térmico
- **Stat3 KO:** Pez cebra genómico Stat3 knockout
- **STAT3<sup>ECKO</sup>:** Pata del ratón en ratones deficientes en STAT3 específicos de células endoteliales
- **CREB:** Proteína de unión al elemento de respuesta cAMP
- **TI:** Tolerancia isquémica.
- **GINI:** internalización de NMDAR inducida por glicina.
- **FGF:** Factor de crecimiento de fibroblastos.
- **EGF:** Factor de crecimiento epidérmico.
- **TNF:** Factor de necrosis tumoral (TNF).
- **RTK:** Tirosina quinasa receptoras de superficie celular.

## 9 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Chen Z, Hu B, Wang F, Du L, Huang B, Li L, et al. Glycine bidirectionally regulates ischemic tolerance via different mechanisms including NR2A-dependent CREB phosphorylation. *J Neurochem*. 2015;133(3):397-408.
2. Hall JC. Glycine. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 1998;22(6):393-8.
3. Gundersen Y, Vaagenes P, Dreiem A, Fonnum F. [Glycine]. *Tidsskr Nor Laegeforen*. 2004;124(6):773-5.
4. Xu TL, Gong N. Glycine and glycine receptor signaling in hippocampal neurons: diversity, function and regulation. *Prog Neurobiol*. 2010;91(4):349-61.
5. Saransaari P, Oja SS. Mechanisms of glycine release in mouse brain stem slices. *Neurochem Res*. 2009;34(2):286-94.
6. Zafra F, Giménez C. Glycine transporters and synaptic function. *IUBMB Life*. 2008;60(12):810-7.
7. Van den Eynden J, Ali SS, Horwood N, Carmans S, Brône B, Hellings N, et al. Glycine and glycine receptor signalling in non-neuronal cells. *Front Mol Neurosci*. 2009;2:9.
8. Gundersen RY, Vaagenes P, Breivik T, Fonnum F, Opstad PK. Glycine--an important neurotransmitter and cytoprotective agent. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2005;49(8):1108-16.
9. Tan YL, Sou NL, Tang FY, Ko HA, Yeh WT, Peng JH, et al. Tracing Metabolic Fate of Mitochondrial Glycine Cleavage System Derived Formate In Vitro and In Vivo. *Int J Mol Sci*. 2020;21(22).
10. Nikandrov VN, Balashevich TV. [Glycine receptors in nervous tissue and their functional role]. *Biomed Khim*. 2014;60(4):403-15.
11. Sato K. Why does a steep caudal-rostral gradient exist in glycine content in the brain? *Med Hypotheses*. 2018;120:1-3.
12. Harsing LG, Jr., Matyus P. Mechanisms of glycine release, which build up synaptic and extrasynaptic glycine levels: the role of synaptic and non-synaptic glycine transporters. *Brain Res Bull*. 2013;93:110-9.
13. Hernandez MS, Troncone LR. Glycine as a neurotransmitter in the forebrain: a short review. *J Neural Transm (Vienna)*. 2009;116(12):1551-60.

14. López-Corcuera B, Benito-Muñoz C, Aragón C. Glycine Transporters in Glia Cells: Structural Studies. *Adv Neurobiol.* 2017;16:13-32.
15. Benito, Cristina. Estructura-función del transportador neuronal de glicina GlyT2: localización del sitio Na<sup>3</sup> y determinantes de inhibición Madrid: UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID FACULTAD DE CIENCIAS; 2018.
16. Dresbach T, Nawrotzki R, Kremer T, Schumacher S, Quinones D, Kluska M, et al. Molecular architecture of glycinergic synapses. *Histochem Cell Biol.* 2008;130(4):617-33.
17. Moss SJ, Smart TG. Constructing inhibitory synapses. *Nat Rev Neurosci.* 2001;2(4):240-50.
18. Legendre P. The glycinergic inhibitory synapse. *Cell Mol Life Sci.* 2001;58(5-6):760-93.
19. Eulenburg V, Arnsen W, Betz H, Gomeza J. Glycine transporters: essential regulators of neurotransmission. *Trends Biochem Sci.* 2005;30(6):325-33.
20. Alvarez FJ. Gephyrin and the regulation of synaptic strength and dynamics at glycinergic inhibitory synapses. *Brain Res Bull.* 2017;129:50-65.
21. Keck T, White JA. Glycinergic inhibition in the hippocampus. *Rev Neurosci.* 2009;20(1):13-22.
22. Kumar A, Basak S, Rao S, Gicheru Y, Mayer ML, Sansom MSP, et al. Mechanisms of activation and desensitization of full-length glycine receptor in lipid nanodiscs. *Nat Commun.* 2020;11(1):3752.
23. Specht CG, Grünewald N, Pascual O, Rostgaard N, Schwarz G, Triller A. Regulation of glycine receptor diffusion properties and gephyrin interactions by protein kinase C. *Embo j.* 2011;30(18):3842-53.
24. Sazo E. Modulación de la función del Receptor de glicina  $\alpha 3$  por la proteína de andamiaje AKAP79 2020. p. 11-8.
25. Ferrero J. POTENCIACIÓN DE LA LIBERACIÓN DE GLUTAMATO POR LOS RECEPTORES METABOTRÓPICOS DE GLUTAMATO DE TIPO 7 Y  $\beta$ -ADRENÉRGICOS. 2016. p. 29-77.
26. Rama EF. Neurotransmisión glicinérgica en motoneuronas. Estudio de la expresión de receptores y de su modulación por proteinquinasas. 2014. p. 7 -10.
27. Marques BL, Oliveira-Lima OC, Carvalho GA, de Almeida Chiarelli R, Ribeiro RI, Parreira RC, et al. Neurobiology of glycine transporters: From molecules to behavior. *Neurosci Biobehav Rev.* 2020;118:97-110.

28. Zafra F, Ibáñez I, Bartolomé-Martín D, Piniella D, Arribas-Blázquez M, Giménez C. Glycine Transporters and Its Coupling with NMDA Receptors. *Adv Neurobiol.* 2017;16:55-83.
29. López-Corcuera B, Geerlings A, Aragón C. Glycine neurotransmitter transporters: an update. *Mol Membr Biol.* 2001;18(1):13-20.
30. Zafra F, Ibáñez I, Giménez C. Glycinergic transmission: glycine transporter GlyT2 in neuronal pathologies. *Neuronal Signal.* 2017;1(1):Ns20160009.
31. Zhang LH, Gong N, Fei D, Xu L, Xu TL. Glycine uptake regulates hippocampal network activity via glycine receptor-mediated tonic inhibition. *Neuropsychopharmacology.* 2008;33(3):701-11.
32. Raiteri L, Raiteri M. Functional 'glial' GLYT1 glycine transporters expressed in neurons. *J Neurochem.* 2010;114(3):647-53.
33. Geerlings A, Núñez E, Rodenstein L, López-Corcuera B, Aragón C. Glycine transporter isoforms show differential subcellular localization in PC12 cells. *J Neurochem.* 2002;82(1):58-65.
34. Gomeza J, Hülsmann S, Ohno K, Eulenburg V, Szöke K, Richter D, et al. Inactivation of the glycine transporter 1 gene discloses vital role of glial glycine uptake in glycinergic inhibition. *Neuron.* 2003;40(4):785-96.
35. de Juan-Sanz J, Núñez E, Villarejo-López L, Pérez-Hernández D, Rodríguez-Fraticelli AE, López-Corcuera B, et al. Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase is a new interacting partner for the neuronal glycine transporter GlyT2 that downregulates its expression in vitro and in vivo. *J Neurosci.* 2013;33(35):14269-81.
36. Zeilhofer HU, Acuña MA, Gingras J, Yévenes GE. Glycine receptors and glycine transporters: targets for novel analgesics? *Cell Mol Life Sci.* 2018;75(3):447-65.
37. Absalom NL, Lewis TM, Kaplan W, Pierce KD, Schofield PR. Role of charged residues in coupling ligand binding and channel activation in the extracellular domain of the glycine receptor. *J Biol Chem.* 2003;278(50):50151-7.
38. Barry PH, Lynch JW. Ligand-gated channels. *IEEE Trans Nanobioscience.* 2005;4(1):70-80.
39. Dutertre S, Becker CM, Betz H. Inhibitory glycine receptors: an update. *J Biol Chem.* 2012;287(48):40216-23.
40. Jonsson S, Kerekes N, Hyytiä P, Ericson M, Söderpalm B. Glycine receptor expression in the forebrain of male AA/ANA rats. *Brain Res.* 2009;1305 Suppl:S27-36.

41. Velázquez-Flores MA, Salceda R. [The post-synaptic glycine receptor mediates in a transitory and sustained way the glycinergic inhibition in the vertebrate retina]. *Rev Neurol*. 2012;55(1):38-46.
42. Ogino K, Hirata H. Defects of the Glycinergic Synapse in Zebrafish. *Front Mol Neurosci*. 2016;9:50.
43. Esmaeili A, Zaker SR. Differential expression of glycine receptor subunit messenger RNA in the rat following spinal cord injury. *Spinal Cord*. 2011;49(2):280-4.
44. Absalom NL, Lewis TM, Schofield PR. Mechanisms of channel gating of the ligand-gated ion channel superfamily inferred from protein structure. *Exp Physiol*. 2004;89(2):145-53.
45. Galaz P, Barra R, Figueroa H, Mariqueo T. Advances in the pharmacology of IGICs auxiliary subunits. *Pharmacol Res*. 2015;101:65-73.
46. Kash TL, Kim T, Trudell JR, Harrison NL. Evaluation of a proposed mechanism of ligand-gated ion channel activation in the GABAA and glycine receptors. *Neurosci Lett*. 2004;371(2-3):230-4.
47. Grutter T, de Carvalho LP, Dufresne V, Taly A, Edelstein SJ, Changeux JP. Molecular tuning of fast gating in pentameric ligand-gated ion channels. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(50):18207-12.
48. Scheefhals N, MacGillavry HD. Functional organization of postsynaptic glutamate receptors. *Mol Cell Neurosci*. 2018;91:82-94.
49. Reiner A, Levitz J. Glutamatergic Signaling in the Central Nervous System: Ionotropic and Metabotropic Receptors in Concert. *Neuron*. 2018;98(6):1080-98.
50. Betz H, Kuhse J, Schmieden V, Laube B, Kirsch J, Harvey RJ. Structure and functions of inhibitory and excitatory glycine receptors. *Ann N Y Acad Sci*. 1999;868:667-76.
51. Vyklicky V, Korinek M, Smejkalova T, Balik A, Krausova B, Kaniakova M, et al. Structure, function, and pharmacology of NMDA receptor channels. *Physiol Res*. 2014;63(Suppl 1):S191-203.
52. Sigel E, Steinmann ME. Structure, function, and modulation of GABA(A) receptors. *J Biol Chem*. 2012;287(48):40224-31.
53. Gamlin CR, Yu WQ, Wong ROL, Hoon M. Assembly and maintenance of GABAergic and Glycinergic circuits in the mammalian nervous system. *Neural Dev*. 2018;13(1):12.

54. Aubrey KR, Supplisson S. Heterogeneous Signaling at GABA and Glycine Co-releasing Terminals. *Front Synaptic Neurosci.* 2018;10:40.
55. Zhang WJ. Effect of P2X purinergic receptors in tumor progression and as a potential target for anti-tumor therapy. *Purinergic Signal.* 2021;17(1):151-62.
56. Habermacher C, Dunning K, Chataigneau T, Grutter T. Molecular structure and function of P2X receptors. *Neuropharmacology.* 2016;104:18-30.
57. Clar DT, Maani CV. *Physiology, Ligand Gated Chloride Channel.* StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing  
Copyright © 2022, StatPearls Publishing LLC.; 2022.
58. Yan T, Venkat P, Chopp M, Zacharek A, Ning R, Roberts C, et al. Neurorestorative Responses to Delayed Human Mesenchymal Stromal Cells Treatment of Stroke in Type 2 Diabetic Rats. *Stroke.* 2016;47(11):2850-8.
59. Amantea D, Bagetta G. Excitatory and inhibitory amino acid neurotransmitters in stroke: from neurotoxicity to ischemic tolerance. *Curr Opin Pharmacol.* 2017;35:111-9.
60. Pinto MC, Mourão FA, Binda NS, Leite HR, Gomez MV, Massensini AR, et al. Pharmacological induction of ischemic tolerance in hippocampal slices by sarcosine preconditioning. *Neurochem Int.* 2012;61(5):713-20.
61. Terasaki Y, Sasaki T, Yagita Y, Okazaki S, Sugiyama Y, Oyama N, et al. Activation of NR2A receptors induces ischemic tolerance through CREB signaling. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2010;30(8):1441-9.
62. Gimenez C, Zafra F, Aragon C. [Pathophysiology of the glutamate and the glycine transporters: new therapeutic targets]. *Rev Neurol.* 2018;67(12):491-504.
63. Luccini E, Romei C, Di Prisco S, Raiteri M, Raiteri L. Ionic dysregulations typical of ischemia provoke release of glycine and GABA by multiple mechanisms. *J Neurochem.* 2010;114(4):1074-84.
64. Li T, Kang G, Wang T, Huang H. Tumor angiogenesis and anti-angiogenic gene therapy for cancer. *Oncol Lett.* 2018;16(1):687-702.
65. Al-Ostoot FH, Salah S, Khamees HA, Khanum SA. Tumor angiogenesis: Current challenges and therapeutic opportunities. *Cancer Treat Res Commun.* 2021;28:100422.
66. Melincovici CS, Boşca AB, Şuşman S, Mărginean M, Mişu C, Istrate M, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) - key factor in normal and pathological angiogenesis. *Rom J Morphol Embryol.* 2018;59(2):455-67.

67. Takahashi S. Vascular endothelial growth factor (VEGF), VEGF receptors and their inhibitors for antiangiogenic tumor therapy. *Biol Pharm Bull.* 2011;34(12):1785-8.
68. McMahon G. VEGF receptor signaling in tumor angiogenesis. *Oncologist.* 2000;5 Suppl 1:3-10.
69. Carmeliet P. VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer. *Oncology.* 2005;69 Suppl 3:4-10.
70. Arshad S, Naveed M, Ullia M, Javed K, Butt A, Khawar M, et al. Targeting STAT-3 signaling pathway in cancer for development of novel drugs: Advancements and challenges. *Genet Mol Biol.* 2020;43(1):e20180160.
71. Switon K, Kotulska K, Janusz-Kaminska A, Zmorzynska J, Jaworski J. Molecular neurobiology of mTOR. *Neuroscience.* 2017;341:112-53.
72. Hua H, Kong Q, Zhang H, Wang J, Luo T, Jiang Y. Targeting mTOR for cancer therapy. *J Hematol Oncol.* 2019;12(1):71.
73. Murugan AK. mTOR: Role in cancer, metastasis and drug resistance. *Semin Cancer Biol.* 2019;59:92-111.
74. Chen Z, Wang X, Liao H, Sheng T, Chen P, Zhou H, et al. Glycine attenuates cerebrovascular remodeling via glycine receptor alpha 2 and vascular endothelial growth factor receptor 2 after stroke. *Am J Transl Res.* 2020;12(10):6895-907.
75. Huang B, Xie Q, Lu X, Qian T, Li S, Zhu R, et al. GlyT1 Inhibitor NFPS Exerts Neuroprotection via GlyR Alpha1 Subunit in the Rat Model of Transient Focal Cerebral Ischaemia and Reperfusion. *Cell Physiol Biochem.* 2016;38(5):1952-62.
76. Cernei N, Heger Z, Gumulec J, Zitka O, Masarik M, Babula P, et al. Sarcosine as a potential prostate cancer biomarker--a review. *Int J Mol Sci.* 2013;14(7):13893-908.
77. Cai CC, Zhu JH, Ye LX, Dai YY, Fang MC, Hu YY, et al. Glycine Protects against Hypoxic-Ischemic Brain Injury by Regulating Mitochondria-Mediated Autophagy via the AMPK Pathway. *Oxid Med Cell Longev.* 2019;2019:4248529.
78. Cappelli J, Khacho P, Wang B, Sokolovski A, Bakkar W, Raymond S, et al. Glycine-induced NMDA receptor internalization provides neuroprotection and preserves vasculature following ischemic stroke. *iScience.* 2022;25(1):103539.
79. Tsuji-Tamura K, Sato M, Fujita M, Tamura M. Glycine exerts dose-dependent biphasic effects on vascular development of zebrafish embryos. *Biochem Biophys Res Commun.* 2020;527(2):539-44.

80. Huynh J, Chand A, Gough D, Ernst M. Therapeutically exploiting STAT3 activity in cancer - using tissue repair as a road map. *Nat Rev Cancer*. 2019;19(2):82-96.
81. Wang L, Astone M, Alam SK, Zhu Z, Pei W, Frank DA, et al. Suppressing STAT3 activity protects the endothelial barrier from VEGF-mediated vascular permeability. *Dis Model Mech*. 2021;14(11).
82. Guo D, Murdoch CE, Xu H, Shi H, Duan DD, Ahmed A, et al. Vascular endothelial growth factor signaling requires glycine to promote angiogenesis. *Sci Rep*. 2017;7(1):14749.
83. Heidari R, Ghanbarinejad V, Mohammadi H, Ahmadi A, Ommati MM, Abdoli N, et al. Mitochondria protection as a mechanism underlying the hepatoprotective effects of glycine in cholestatic mice. *Biomed Pharmacother*. 2018;97:1086-95.