



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

**PAPEL DE LOS RECEPTORES DE GLICINA Y GLICINA EN LA FUNCIÓN  
ENDOTELIAL VASCULAR: UNA NUEVA PERSPECTIVA PARA EL MANEJO  
DE LA LESIÓN POST-ISQUÉMICA.**

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

**AUTOR: RICARDO VALDÉS JORQUERA.  
PROFESORA GUÍA: BQ. Dra. TRINIDAD A. MARIQUEO.**

**TALCA-CHILE**

**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:**

“Este trabajo es en honor a mi hermana claudia, un beso al cielo”

**Agradecimientos:**

Agradecer a mi familia y amigos que fueron una parte fundamental en el proceso de crecimiento, agradecer especialmente a mi pareja por apoyarme siempre en todo y estar a mi lado.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>RESUMEN</b>	<b>6</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>7</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>9</b>
<b>1. OBJETIVO GENERAL</b>	<b>9</b>
<b>2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b>	<b>9</b>
<b>METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA Y ORGANIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN</b>	<b>10</b>
<b>1. MARCO TEÓRICO</b>	<b>11</b>
<b>1.1 GLICINA</b>	<b>11</b>
<b>1.2 RECEPTORES DE GLICINA (GlyR)</b>	<b>15</b>
<b>1.3 TRANSPORTADORES DE GLICINA (GlyT)</b>	<b>20</b>
<b>1.4 CELULAS ENDOTELIALES (CE)</b>	<b>21</b>
<b>1.5 LESIÓN POST-ISQUÉMICA</b>	<b>24</b>
<b>2. MEDIADORES DE LA ANGIOGÉNESIS EN CÉLULAS ENDOTELIALES EN EVENTOS ISQUÉMICOS.</b>	<b>27</b>
<b>2.1 CONCENTRACIÓN DE GLICINA</b>	<b>28</b>
<b>2.2 FACTOR DE CRECIMIENTO ENDOTELIAL VASCULAR (VEGF)</b>	<b>31</b>
<b>2.3 FACTOR 1 INDUCIBLE POR HIPOXIA (HIF-1<math>\alpha</math>)</b>	<b>35</b>
<b>2.4 FOSFOINOSITOL 3-QUINASAS (PI3K)</b>	<b>36</b>
<b>2.5 DIANA DE RAPAMICINA EN CÉLULAS DE MAMIFERO (mTOR)</b>	<b>37</b>
<b>3. VÍAS DE SEÑALIZACIÓN CELULARES IMPLICADAS EN LA FUNCIÓN ENDOTELIAL.</b>	<b>39</b>
<b>3.1 Vía VEGFR2/ pSTAT3</b>	<b>39</b>
<b>3.2 Vía GlyT1- Glycine- mTOR – VDAC1</b>	<b>45</b>
<b>3.3 Vía PI3K/akt/mTOR</b>	<b>48</b>
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>54</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>55</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
<b>Figura 1:</b> Señalización vía VEGFR-2/p STAT3.	42
<b>Figura 2:</b> Señalización via GlyT1/Glicina/mTOR/VDAC1.	45
<b>Figura 3:</b> Señalización vía PI3K/Akt/mTOR.	48
<b>Figura 4:</b> Esquema general de la señalización de las 3 vías en estudio.	49
<b>Figura 5:</b> Señalizaciones celulares involucradas en la función endotelial.	50

## **RESUMEN**

Las alteraciones de la función del sistema vascular son determinantes para la etiología de una amplia gama de enfermedades que producen daño vascular asociado a la lesión por isquemia. La disfunción endotelial es característica de las enfermedades vasculares y su asociación con una diversidad de factores está bien documentada. La búsqueda de estrategias terapéuticas que preserven y mejoren las funciones del endotelio tiene gran relevancia en condiciones patológicas, tales como el daño producido por la isquemia, shock hemorrágico, hipoxia y la aterosclerosis. Existen gran cantidad de mecanismos que intervienen de manera directa en la adaptación y función endotelial vascular incluyendo a las hormonas y el estrés oxidativo, moléculas específicas que intervienen en la regulación de la angiogénesis y canales de la membrana plasmática asociados a receptores acoplados a proteínas G. Otros protagonistas son las consecuencias de la disfunción endotelial en la angiogénesis, la revascularización y la lesión post-isquémica. Esta colección de contribuciones científicas buscar desvelar los mecanismos a nivel sistémico y celular por los cuales se regula la función endotelial, abordando la capacidad del sistema vascular para mantener su funcionalidad a través de vías de señalización celulares vinculadas a la glicina y sus respectivos receptores.

**Palabras clave:** GlyR- Glicina- GlyT- Lesión post-isquémica- células endoteliales- VEGF- pSTAT3- PI3K- mTOR.

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad la glicina ha tomado un rol importante en investigaciones vinculadas a lesiones post isquémicas, la evidencia consistente sugiere a la glicina como un aminoácido con capacidad de contrarrestar en cierta medida el daño vascular producido por la isquemia vinculada a la lesión.

La glicina está implicada en mecanismos angiogénicos durante el transcurso de lesiones vasculares. Por lo tanto, su análisis y comprensión puede proporcionar información de suma importancia para el tratamiento de trastornos vasculares y para el desarrollo de nuevas dianas terapéuticas enfocadas en las lesiones post isquémicas.

La angiogénesis es un proceso en el cual se desarrollan nuevos vasos sanguíneos desde una red vascular preexistente. Es importante comprender que la formación de nuevos vasos desde una red vascular es un proceso bastante complejo, el cual depende de muchos tipos de receptores y ligandos, los cuales finalmente desencadenan un equilibrio regulado mediante las señales estimulantes e inhibitoras generadas.

Hay que mencionar además que la actividad de la angiogénesis depende del equilibrio de muchos factores estimulantes o inhibidores, por lo que, debe existir una regulación estricta de este sistema, ya que, su funcionamiento equilibrado es fundamental para el organismo, esto gracias a que tanto el desarrollo insuficiente como la formación excesiva pueden conducir a enfermedades graves.

Numerosos estudios han revelado el rol clave que desempeñan los receptores de glicina (GlyR $\alpha$ 1 y GlyR $\alpha$ 2) en condiciones post- isquémicas, llegando a observarse una notable mejora ante la presencia de glicina y su posterior señalización mediante estos receptores en diferentes modelos experimentales de animales. Es en este punto donde se ha vinculado a la glicina como una molécula capaz de generar efectos moduladores en la función de células endoteliales vasculares (CE) en diferentes mecanismos de proliferación celular y desarrollo vascular asociado a rutas de señalización celular, generando efectos según la concentración en la cual sea administrada y según la estimulación sobre GlyR específicos en lesiones post-isquémicas.

Es así como cobra importancia el estudio de los componentes implicados en la angiogénesis de las células endoteliales tales como la glicina y sus receptores específicos, con el fin de poder entender el rol que cumplen dentro del organismo y las ventajas que puede representar entender las rutas de señalización implicadas.

En esta revisión nos centraremos en comprender el papel de la glicina y los receptores de glicina como un objetivo capaz de atenuar la lesión isquémica, detallando algunas de las vías de señalización más importantes vinculadas, describiendo sus posibles mecanismos junto a sus posibles vínculos. Finalmente destacando el papel de la glicina y sus receptores específicos como una nueva diana terapéutica a futuro frente a eventos post-isquémicos.

## **OBJETIVOS**

### **1. OBJETIVO GENERAL**

- 1.1. Comprender el rol de la glicina y de sus receptores en la función endotelial como una nueva perspectiva sobre la lesión post isquémica.

### **2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- 2.1. Destacar el papel de la glicina y los receptores de glicina como nuevo objetivo terapéutico para afrontar la lesión post-isquémica.
- 2.2. Señalar las principales vías implicadas en la angiogénesis después de una lesión post-isquémica.

## **METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA Y ORGANIZACIÓN DE LA INFORMACION**

En la presente revisión bibliográfica se investigó sobre el rol de los receptores de glicina junto a la glicina en la función endotelial vascular, vinculándolos como una posible diana en las lesiones de tipo post-isquémicas. Para la redacción y fabricación del documento se utilizaron diferentes fuentes de información tales como revistas científicas y libros, esto con el objetivo de recopilar información de calidad y fidedigna para el posterior trabajo con lo recopilado en la revisión.

Se utilizaron bases de datos como Scopus, NCBI, Science y PubMed donde se realizaron búsquedas tales como: receptores de glicina y función endotelial, glicina e isquemia, receptores de glicina e isquemia, entre otras.

Cabe mencionar que la revisión se fundamenta en la búsqueda de información sobre el tema mencionado con anterioridad, en el transcurso de los últimos 30 años destacando de esta manera algunos de los más importantes descubrimientos relacionados a la revisión.

## **1. MARCO TEÓRICO**

### **1.1 GLICINA**

La glicina es un aminoácido no esencial simple, y es uno de los principales neurotransmisores inhibidores del sistema nervioso central que actúa sobre un canal de cloruro dependiente de glicina (GlyR). Debido al efecto inhibitorio la glicina posee la capacidad de regular la excitación neuronal (1).

Curiosamente la glicina también es coagonista del receptor N-metil-D-aspartato (NMDAR), el cual es un canal iónico que presenta permeabilidad al calcio y es el receptor del glutamato, que es el principal neurotransmisor excitador del cerebro humano (2)(3).

Su pequeño tamaño lo ayuda a funcionar como un enlace flexible en las proteínas y permite la formación de hélices, una molécula de señalización extracelular, sitios de reconocimiento en las membranas celulares y enzimas, un modificador de la actividad molecular a través de la conjugación y extensión de los precursores hormonales, y un osmoprotector (4).

Existe evidencia experimental sustancial de que la glicina libre puede tener un papel en la protección de los tejidos contra agresiones tales como isquemia, hipoxia y reperfusión (5).

Se han evidenciado condiciones en las cuales la glicina es capaz de disminuir el estrés oxidativo en diversos estadios de desarrollo de la enfermedad (6)(7)(8)(9)(10).

En un estudio realizado en ratas en un modelo de isquemia/reperfusión intestinal, la glicina pudo bloquear el incremento sistémico de manera temprana provocado por las citoquinas proinflamatorias factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) y la interleucina-6 (IL-6)(11).

La glicina también protege inhibiendo la activación de diferentes enzimas degradantes como lo son las proteasas, cumpliendo un rol protector sobre la lesión celular. Por ejemplo la glicina inhibe proteasas tales como la calpaína, la cual está involucrada en el daño celular asociado a células con un agotamiento de las reservas de ATP (12).

Un estudio reciente vinculó a la glicina con efectos en la función endotelial, esto mediante la angiogénesis la cual es mediada según la concentración de glicina, llegando a mejorar considerablemente el daño isquémico producido en diferentes modelos en embriones de pez cebra (13).

Además, hay que mencionar, la participación de la glicina sobre sus receptores y transportadores, en los cuales se ha demostrado su efecto en numerosas vías de señalización celulares que desencadenan respuestas angiogénicas ante la isquemia en diferentes modelos experimentales (13)(14)(15)(16)(17).

Por lo mencionado anteriormente se hace importante conocer las funciones de la glicina y la interacción que posee con su respectivo receptor, ya que la glicina posee un efecto protector sobre diversas condiciones patológicas del cuerpo humano (13)(14)(15)(16)(17) .

Se ha evidenciado que la glicina es capaz de disminuir el daño generado por el estrés oxidativo en diversas etapas de la lesión producida por shock hemorrágico, enfermedad renal y hepática (6)(7)(8)(10)(18).

Un estudio mencionó que la glicina inhibe la activación de la fosfolipasa A<sub>2</sub> causada por la hipoxia en las células tubulares renales y en los hepatocitos, participando de esta forma en la disminución del daño isquémico (19).

La glicina al inhibir esta fosfolipasa A<sub>2</sub> encargada de catalizar la hidrólisis del ácido araquidónico genera una disminución en la liberación del ácido protegiendo de esta manera contra la lesión celular, debido a que el ácido araquidónico se puede metabolizar en eicosanoides vasoconstrictores y quimiotácticos los que intervienen de manera importante en el proceso inflamatorio (19).

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) pueden producir un daño en diferentes macromoléculas fundamentales para la homeostasis celular tales como los lípidos, proteínas y el ADN lo que se correlaciona directamente con el daño en las células, por lo que se vuelve necesario estudiar el rol protector que ejerce la glicina frente a estas especies reactivas (20)(21).

Se ha visto un rol preventivo de la glicina en la inflamación celular, diferentes estudios han demostrado que la glicina posee la capacidad de proteger frente a una lesión producida por hipoxia, isquemia/reperfusión y agotamiento de ATP a las células tubulares renales, los hepatocitos y las células endoteliales (12)(22)(23)(24)(25)(26).

Diferentes estudios señalan que la glicina posee la capacidad de mejorar la microcirculación, evitando de esta manera la hipoxia tisular en los tejidos (7)(8)(27). De igual manera es importante mencionar que esta mejora en la microcirculación se debe en gran medida al efecto que tiene la glicina como neurotransmisor inhibitor (7).

Cabe señalar que la glicina además de la capacidad de prevenir la lesión temprana también genera una disminución de la hipoxia crónica y la fibrosis posterior a la lesión por isquemia/reperfusión (8).

Diferentes autores han sugerido la función citoprotectora que tiene la glicina en las células endoteliales sometidas a hipoxia o tratadas con cianuro, ionomicida, maitotoxina y peróxido de hidrogeno (28)(29)(22)(30).

También se ha visto que la glicina en células que poseen un agotamiento de ATP puede actuar previniendo la hinchazón de las células generada por los gradientes osmóticos coloidales, evitando la apoptosis celular (31).

## 1.2 RECEPTORES DE GLICINA (GlyR)

Los GlyR son canales que permiten el ingreso o salida de aniones permeables como el cloruro de esta forma posee el control de la excitabilidad del sistema nervioso central, al abrirse estos canales en respuesta a la glicina permiten una entrada del flujo de este anión hacia la célula a través de la membrana celular generando una hiperpolarización que resulta en la inhibición de la excitación sináptica (1)(32).

Los GlyR son proteínas transmembrana de la superficie celular que pertenecen a la superfamilia de canales iónicos controlados por ligando del bucle Cys (Cys-loop LGICs). Se pueden ensamblar como homopentámeros compuestos por subunidades  $\alpha$  ( $\alpha 1$  a  $\alpha 4$ ) o heteropentámeros que forman complejos con la subunidad  $\beta$  auxiliar (33)(34).

Las subunidades  $\alpha$  están codificadas por cuatro genes específicos diferentes Glra (1-4) a diferencia de la subunidad  $\beta$  auxiliar esta codificada por un solo gen Glrb. cada una de estas subunidades posee un gran dominio de unión extracelular, cuatro segmentos transmembranas denominados desde M1 a M4 y un bucle intracelular largo comprendido entre M3 y M4. La unión de sus agonistas interactúa con los residuos terminales M2 lo que a su vez genera una rotación que abre el poro del canal (35).

Los GlyR se encuentran principalmente en la medula espinal, tronco encefálico y las regiones superiores del cerebro (1). La expresión de los GlyRa2 que ocurre en las primeras

etapas del desarrollo del sistema nervioso central curiosamente de igual manera ocurre en las células endovasculares (16).

Cabe destacar que las células que están involucradas en las respuestas inflamatorias e inmunológicas tales como los neutrófilos, macrófagos, monocitos, células linfoblásticas humanas inmortalizadas y los linfocitos T poseen GlyR (36)(37)(38)(39)(40).

A su vez también se ha visto la presencia de GlyR en los hepatocitos, células endoteliales y las células tubulares proximales renales (41)(42)(43)(31).

Se ha comprobado que durante una lesión isquémica inducida (tMCAO) los niveles de ARNm de GlyR $\alpha$ 2 se ven reducidos, pero posterior a la administración de glicina los niveles de expresión de las proteínas mejoran lo que genera una reducción de la isquemia (16).

Además, se demostró que tanto el gen GLRA2 como la proteína GlyR $\alpha$ 2 fueron alterados de forma significativa después del accidente cerebrovascular (tMCAO), Por otro lado, la investigación logró demostrar por primera vez que este receptor puede ser de origen vascular y usado mediante el tratamiento con glicina para disminuir el daño producido por la isquemia (16).

Los GlyR presentan un sitio de unión a agonistas el cual está conformado por residuos de subunidades adyacentes las cuales están ubicadas en el dominio extracelular (ECD) del GlyR (44).

Las diferencias moleculares existentes entre el GlyR homopéntamerico y el heteropéntamerico se correlacionan con la respuesta electrofisiológica que tiene la glicina en ellos. Los GlyRs heteropéntamerico poseen una mayor afinidad farmacológica si se compara con los GlyRs homopéntamericos (45).

De igual manera cabe destacar que los GlyR se ven afectados por diferentes moduladores alostéricos tales como el etanol, analgésicos generales, cannabinoides, picrotoxina, zinc, interleucina 1- $\beta$ , entre otros (46)(47)(48). Diferentes interfaces han determinado las propiedades del canal farmacológico de los GlyR (49).

La modulación que ejerce el etanol y los analgésicos naturales sobre los GlyRs ha sido estudiada mediante mutagénesis dirigida al sitio de unión acompañado a su vez de experimentos electrofisiológicos (49)(50)(51).

Diferentes estudios sobre la modulación de los GlyR encontraron que la interacción del etanol y los analgésicos generales implica la unión específica dirigida a un bolsillo hidrofóbico perteneciente entre los dominios M2 y M3. Se logró observar que la polaridad y la hidrofobicidad de los residuos en la subunidad  $\beta$  presentan cambios sobre la afinidad del receptor por moléculas equivalentes en los receptores heteropéntamericos (49)(50)(51).

En el caso de los cannabinoides estudios previos demuestran que los receptores homopéntaméricos poseen una mayor sensibilidad que los receptores heteropéntaméricos a los residuos de deshidroxil-cannabidiol.(DH-CBD)(52).

Estudios recientes han evidenciado que los cannabinoides poseen la capacidad de producir una potenciación en la subunidad  $\alpha 3$  específicamente en la hélice M3 transmembranal de los GlyR.(52)(53)(54).

Por otro lado, la picrotoxina tiene la capacidad de interactuar con dos anillos específicamente dentro del canal iónico formado por las hélices M2. Los residuos en la subunidad generan un aumento en la rigidez propia del canal lo que resulta en un aumento del volumen hidrofóbico alterando de esta manera cualquier posible interacción de tipo electroestática (55)(56).

Un estudio realizado en el 2020 logró demostrar que los receptores homopéntaméricos en comparación con los receptores heteropéntaméricos poseen una sensibilidad mayor respecto a los efectos de la picrotoxina (55).

El Zinc a su vez genera una modulación que ocurre en el ECD de los GlyRs. Se han descrito una potenciación en dos regiones específicamente asociadas a residuos pertenecientes a las subunidades  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$  y  $\beta$  (57)(58).

Un estudio reciente demostró que la interleucina 1- $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) genera una modulación en la transmisión glicinérgica mediada por los receptores de glicina en la amígdala central. Esto se ve correlacionado con otros estudios que señalan que la IL-1 $\beta$  genera una disminución de la neurotransmisión inhibitoria glicinérgica en la medula espinal, esto mediante la capacidad de reducir el número y la amplitud de las corrientes postsinápticas inhibitorias espontáneas (58)(59)(60).

Cabe destacar que la subunidad auxiliar  $\beta$  juega un rol clave en este tipo de modulación, esto se demostró mediante la mutación de un residuo específico de esta subunidad (Tyr240), donde al generar un cambio estructural resultó en una caída de la neurotransmisión glicinérgica a través de la IL-1 $\beta$ , de esta manera demostrando que esta posición es esencial para la interacción de IL-1 $\beta$  y los GlyRs (58)(59)(60)(61).

La importancia de esta modulación es debido al impacto que genera sobre la vía de señalización vinculada a los mecanismos angiogénicos. De esta manera la IL-1 $\beta$  y las vías relacionadas poseen un papel clave como un mediador patogénico producido por el daño cerebral isquémico, lo que genera una potenciación sobre algunas condiciones neurológicas patológicas tales como accidentes cerebrovasculares y trauma craneoencefálico (62).

De igual manera estudios previos lograron demostrar el rol fundamental que posee la IL-1 $\beta$  después de la reperfusión mediante un modelo de lesión cerebral isquémica (63). Se pudo evidenciar que el uso de un antagonista del receptor de IL-1 $\beta$  resulta en un efecto neuroprotector en un modelo de ratas (64).

Por lo que finalmente se vuelve importante entender como la modulación alostérica producida por diferentes agonistas puede generar efectos sobre las subunidades en los GlyRs de esta forma afectando ya sea activando o inhibiendo la interacción de la glicina con el receptor (50).

### **1.3 TRANSPORTADORES DE GLICINA (GlyT)**

Los GlyT son miembros de la familia de transportadores dependientes de sodio y cloruro, cuyas actividades y distribuciones subcelulares están reguladas por la fosforilación y las interacciones con otras proteínas (65).

Así mismo los GlyT contribuyen a la regulación de los niveles extracelulares de glicina donde al menos se han vinculado dos transportadores de glicina (GlyT1 y GlyT2). La glicina es almacenada y libera de las terminales nerviosas mediante estos transportadores (65).

Se han establecido diferentes vínculos entre los receptores y transportadores de glicina, un estudio demostró que el inhibidor de GlyT1 NFPS (N [3-(4'-fluorofenil)-3-(4'-fenilfenoxi) propil] sarcosina) ejerce una neuroprotección a través de la subunidad GlyR $\alpha$ 1 en un modelo de rata con isquemia cerebral focal transitoria (66).

El estudio se realizó mediante el uso de altas dosis de NFPS (100 mg/kg) más un inhibidor de GlyR (estricnina) lo que genera que el volumen de infarto se reduzca significativamente,

esto sugiere que la glicina endógena actúa mediante la modulación selectiva de los GlyR (66).

Finalmente lo señalado explica que al bloquear GlyT1 el cual es una proteína de membrana que recupera glicina, se genera un aumento en la glicina extracelular generando una mayor estimulación de los GlyR y sus respectivas subunidades, lo que repercutió directamente en una reducción del volumen del tejido infartado (66).

#### **1.4 CELULAS ENDOTELIALES (CE)**

El endotelio está formado por una monocapa de células endoteliales y estas a su vez forman el sistema circulatorio del organismo. El endotelio se caracteriza por ser una barrera celular altamente selectiva que juega un rol fundamental en la homeostasis vascular (67).

Para mantener la homeostasis vascular hay un balance altamente regulado entre un estado vasodilatador, el cual se asocia comúnmente con propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antitrombóticas; y un estado vasoconstrictor, el cual se asocia comúnmente con propiedades prooxidantes, proinflamatorias y protrombóticas (68).

Las células endoteliales son de suma importancia en el cuerpo humano debido a que son parte de un soporte vital adaptable, en el cual forman una capa de células la cual recubre todos los vasos sanguíneos, regulando de esta manera el intercambio con el torrente sanguíneo y los tejidos circundantes (69).

Un mecanismo homeostático asegura que los vasos sanguíneos logren penetrar todas las regiones del cuerpo. Así se pueden generar nuevos vasos sanguíneos a partir de las paredes de los vasos pequeños existentes por medio del crecimiento de estas células (69).

Este tipo de células poseen una amplia variedad de funciones que varían su especificidad según su localización, por esto presentan una considerable heterogeneidad y características diferentes según el lecho vascular analizado (70).

Las células endoteliales participan en el mecanismo de curación del organismo posterior a un proceso inflamatorio o una lesión respectivamente. Esta célula cumple un rol fundamental en la angiogénesis, siendo un vector involucrado de manera directa en la reparación tisular (71).

En respuesta a la lesión producida por la isquemia se produce la disfunción endotelial (DE) el cual es un rasgo característico de los vasos sanguíneos ateroscleróticos, los vasos sujetos a lesión mecánica y los vasos colaterales (69).

Se conoce como disfunción endotelial a un fenotipo alterado característico que posee una biodisponibilidad reducida de óxido nítrico (NO), una vasorreactividad y estrés oxidativo aumentado junto a una mayor expresión de factores protrombóticos y proinflamatorios (72).

En la disfunción endotelial causada por una lesión isquémica se pierde el balance entre los reguladores de la homeostasis vascular, prevaleciendo un estado vasoconstrictor,

proinflamatorio, prooxidante, protrombótico y con características de adhesión provascular (68)(73)(74).

El estrés oxidativo se ha mencionado como un mecanismo celular desarrollado comúnmente en la disfunción endotelial. Los factores de riesgo se asocian principalmente con la activación de las especies reactivas del oxígeno (ROS), especialmente las de la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidasa reducida (NADPH)(68).

En las células endoteliales un estudio evidenció que el silenciamiento de la enzima metabólica mitocondrial metilentetrahidrofolato deshidrogenasa/ciclohidrolasa bifuncional (MTHFD2) produce una reducción en la cantidad de glicina intracelular y suprime el brote vascular (75).

## **1.5 LESIÓN POST-ISQUÉMICA**

La isquemia sucede cuando el suministro de sangre es menor comparado a la demanda requerida para el funcionamiento normal de un tejido, lo que desencadena una serie de carencias de oxígeno, glucosa y otras sustancias necesarias para el metabolismo y funcionamiento celular (76).

La isquemia produce un aumento del estrés oxidativo pudiendo conducir directamente a la lesión celular. El estrés oxidativo genera ROS las cuales pueden ocasionar un daño en diferentes macromoléculas de importancia biológica como lípidos, proteínas y el ADN los cuales cumplen un rol clave en la homeostasis celular (20)(21).

El estrés oxidativo en las células genera la activación de diferentes factores de transcripción como el factor nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) y la proteína activadora-1 (AP-1), lo que desencadena la formación de citoquinas proinflamatorias y moléculas de adhesión celular (20).

La formación y liberación de mediadores proinflamatorios junto con el reclutamiento de leucocitos en la circulación median la respuesta inflamatoria como tal (77). Es bien sabido que las citoquinas proinflamatorias poseen un rol fundamental en el desarrollo del proceso inflamatorio (77).

A su vez las ROS se forman de diferentes fuentes, algunos químicos y fármacos pueden generar ROS mediante el metabolismo de estos. El proceso de reoxigenación posterior a la lesión isquémica produce ROS por el metabolismo mediado por la xantina oxidasa, además algunas células como los macrófagos y neutrófilos cuando son activados generan radicales de oxígeno mediante la NADPH (21).

La lesión post-isquémica se traduce en los trastornos que son desencadenados posterior a la isquemia en algún tejido, los cuales generan diferentes tipos de daños tanto en la zona afectada como en el organismo (20)(21).

Se planteó una hipótesis en un estudio de que la glicina durante la hipoxia podría bloquear la apertura de un denominado “canal de muerte”. Lograron identificar que las células endoteliales sinusoidales experimentaban diferentes etapas durante la isquemia (31).

Durante la hipoxia temprana, se genera un flujo de entrada de cationes vinculado a una reducción en los niveles de la actividad ATPasa  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , esto desencadena inflamación

celular moderada. Transcurrido este proceso se desarrolla una segunda fase denominada etapa estable donde los aniones inician a fluir al interior celular mediante el canal de la muerte, esto genera un aumento en la presión osmótica coloide y de esta manera repercute en la formación de ampollas en las células, lo que finalmente induce a la ruptura de las membranas plasmáticas y la apoptosis (31).

Los hallazgos en el estudio vincularon a la glicina con la capacidad de ralentizar la entrada de calceína aniónica, disminuyendo la formación de ampollas y previniendo la entrada de yoduro de propidio y macromoléculas en el interior de las células (31).

Dentro de la lesión post-isquémica, el daño por isquemia y reperfusión es producido por diferentes tipos de lesiones tales como traumatismos, shock hemorrágico, accidente cerebrovascular, enfermedad cardiovascular y posterior a una cirugía mayor (76).

## **2. MEDIADORES DE LA ANGIOGÉNESIS EN CÉLULAS ENDOTELIALES EN EVENTOS ISQUÉMICOS.**

Se puede definir la angiogénesis como una expansión de las arterias y las venas a través de procesos de crecimiento y remodelación circunferenciales, generando un brote de los capilares y una ramificación en redes más grandes y complejas, por lo cual se genera una expansión desde una red vascular a una zona avascular (31).

Dentro de la angiogénesis como tal se pueden señalar dos tipos, una de ellas es la angiogénesis fisiológica la cual se caracteriza por estar estrictamente regulada por un mecanismo complejo y ser producida de manera transitoria; mientras a que su vez la angiogénesis patológica es producida por ejemplo en el caso del cáncer a través del crecimiento tumoral, donde se caracteriza por ser generada por una interrupción de los reguladores angiogénicos positivos y negativos (78).

La angiogénesis mediada por células endoteliales comienza con la destrucción local de la pared de un vaso sanguíneo preexistente, la activación de la proliferación de células endoteliales y la migración (79).

## **2.1 CONCENTRACIÓN DE GLICINA**

Ha sido documentado en un estudio reciente que las bajas concentraciones de glicina (10 y 100 mM) promovieron el alargamiento de los nuevos brotes vasculares en embriones de pez cebra. Proceso que fue bloqueado mediante el tratamiento con inhibidores de GlyT y GlyR (13).

A diferencia de lo mencionado con anterioridad, las altas concentraciones de glicina (400mM) generan una obstrucción del desarrollo de los brotes vasculares, disminuyendo la angiogénesis. Esta obstrucción presentó una disminución significativa cuando se aplicaron inhibidores de GlyT (13).

Los autores sugirieron que los resultados señalados dependientes de glicina indican una posible modulación parcial al regular la expresión de los genes asociados a VEGF generando de esta manera efectos bifásicos mediados por la concentración de este aminoácido (13).

Diferentes estudios han demostrado el rol clave de la concentración de glicina al bloquear el aumento de calcio intracelular provocado por distintos estímulos dependientes de cloruro extracelular (36)(37)(38)(39)(40)(80)(81).

El calcio posee un rol clave en la regulación celular, el aumento del calcio intracelular gatilla una serie de eventos intracelulares los cuales se asocian a la generación de citoquinas y mediadores inflamatorios, la activación de enzimas tales como proteasas y fosfolipasa A, la proliferación celular y la apoptosis (36)(37)(38)(39)(40)(80)(81).

La glicina activa los GlyR los que a su vez logran suprimir estos eventos dependientes de calcio, esto se genera debido a que producen una entrada de cloruro y a su vez la hiperpolarización de las membranas celulares, y la inhibición de la apertura de los canales de calcio que son dependientes de voltaje (36)(37)(38)(39)(40)(80)(81).

Un estudio realizado en el 2015 señaló el efecto del pretratamiento con glicina en diferentes concentraciones (100 mg/kg y 1000 mg/kg) en la isquemia cerebral en un modelo de ratas, donde para el respectivo análisis se desarrolló un modelo de isquemia in vitro (privación de oxígeno y glucosa) e in vivo (oclusión transitoria de la arteria cerebral media) (82).

El análisis de los resultados indicó que las concentraciones bajas de glicina (L-Gly) generaron una disminución significativa de la LTP (potenciación a largo plazo) isquémica del hipocampo (i-LTP) en conjunto con la reducción del volumen de infarto y las

puntuaciones de déficit neurológico que se administraron previa a la inducción de la isquemia (82).

A su vez las dosis altas de glicina (H-Gly) provocaron un efecto contrario al generado por las concentraciones bajas de glicina (L-Gly), donde se visualizó un aumento importante de la i-LTP, el volumen de infarto y las puntuaciones de déficit neurológico sujeto a las mismas condiciones de estudio (82).

Los autores señalaron que las concentraciones bajas de glicina obtuvieron una mejora en la excitación de la red neuronal mediante la inducción por fármacos de la LTP, la cual posee la capacidad de activar señales pro-supervivencia durante la tolerancia isquémica, destacando un rol neuroprotector asociado a la dosis bajas de glicina (82).

## **2.2 FACTOR DE CRECIMIENTO ENDOTELIAL VASCULAR (VEGF)**

VEGF también conocido como VEGF-A, es un factor de crecimiento esencial, ya que se encarga de la regulación la angiogénesis y es el único mitogen específico vinculado a células endoteliales (83).

Durante la isquemia cerebral VEGF es producido de manera activa y el efecto de este factor se relaciona directamente con su rol clave en la respuesta vascular y por ende en la angiogénesis (84)(85).

Ha sido bien documentado el rol fundamental que posee VEGF en la formación de nuevos vasos sanguíneos y la estimulación directa sobre la neurogénesis en diferentes grupos celulares del cuerpo humano (86)(87).

En diferentes estudios clínicos experimentales se logró evidenciar un incremento en el nivel de VEGF en la sangre periférica asociado a diferentes casos patológicos tales como crecimiento tumoral, enfermedades infecciosas crónicas, inflamación y daños producidos por la isquemia (88)(89)(90)(91)(92)(93)(94).

Es importante mencionar que las citoquinas vinculadas al grupo VEGF están vinculadas en la protección de neuronas frente a la apoptosis celular, mediante diversas reacciones bioquímicas donde destacan sus propiedades neuroprotectoras (95).

VEGF posee la capacidad de actuar sobre neuronas con el propósito de estimular el desarrollo de axones y mejorar las condiciones de supervivencia de las neuronas ubicadas en los ganglios cervicales y espinales (96).

En un estudio se observó que VEGF indujo una mejora en la función mitocondrial, incluida la producción de ATP intracelular, la respiración oxidativa, las enzimas de defensa contra ROS y el óxido nítrico (83).

Cabe mencionar que investigadores han logrado demostrar que VEGF es capaz de activar al GlyT1 y de esta manera esclarecer la participación en la regulación de las concentraciones de glicina extracelulares (15).

Diferentes estudios han demostrado que VEGF en diferentes modelos de isquemia/reperfusión posee la capacidad de incrementar la supervivencia de las células ganglionares de la retina en ratas, teniendo un papel clave como neuroprotector (97).

Así de igual forma este efecto protector ha sido mencionado en otros estudios donde se utilizó un modelo de ratas en el cual fueron sometidas a un proceso de oclusión de la arteria cerebral media durante 90 minutos. Se evaluaron diferentes áreas tales como zona isquémica, funciones neurológicas y el perfil vascular con el uso y sin el uso de inyecciones intravasculares de VEGF (98).

Llegando a los resultados de que la administración de VEGF logró disminuir el tamaño del infarto mejorando a su vez el rendimiento neurológico. También se pudo comprobar que VEGF mejora la supervivencia de las neuronas y es capaz de estimular de manera directa la angiogénesis (98).

Un estudio realizado mediante el uso de inhibidores de GlyR (estricnina), vinculó el efecto de la glicina mediante los GlyR con VEGF, ya que se observó una protección directa de la glicina sobre la apoptosis de las células endoteliales sinusoidales inducida por la privación de este factor (31).

Es conocido que VEGF se une y posee la capacidad de activar tanto los receptores VEGFR-1 (flt-1) y VEGFR-2 (KDR/flk-1), promoviendo el desarrollo y la permeabilidad

vascular, migración celular y la expresión génica de diferentes reguladores de la angiogénesis (99).

Los VEGFR son receptores tirosina quinasa (TKR), poseen un dominio extracelular para la unión con un ligando, un dominio transmembrana y un dominio de tirosina quinasa (15). Los TKR dentro de la región carboxilo- terminal, tienen sitios de autofosforilación de tirosina que son importantes para generar la cascada de señalización (15).

Se ha demostrado que mediante la hipoperfusión cerebral crónica se podía inducir una regulación positiva sostenida de la expresión de la proteína y ARNm de VEGF en el cerebro de ratas, lo que se asocia directamente con la angiogénesis (100).

Un estudio indicó que las concentraciones de VEGF en el plasma sanguíneo en pacientes con accidente cerebrovascular de diferentes orígenes. Usaron la concentración del plasma sanguíneo del grupo control que estaba formado por pacientes que no poseían enfermedades vasculares y lo compararon con el grupo de pacientes con accidente cerebrovascular (101).

Según los autores la concentración en el plasma de VEGF en los pacientes con accidente cerebrovascular a los 90 días ( $620 \pm 15$  pg/ml) presentó un incremento significativo respecto a la concentración de plasma del grupo control ( $245 \pm 28$  -  $471 \pm 13$  pg/ml). Estos datos señalan de manera directa que existe una relación entre la cantidad de VEGF y el ictus como tal (101).

También otro estudio vinculó la terapia génica combinada de VEGF<sub>165</sub> y el factor 1 derivado de las células estromales (SDF-1) con la capacidad de ser una potencial estrategia para mejorar la remodelación vascular en conjunto con la recuperación de la función neuronal posterior a un evento isquémico como el infarto cerebral (102).

### **2.3 FACTOR 1 INDUCIBLE POR HIPOXIA (HIF-1 $\alpha$ )**

El factor HIF es un complejo de unión a ADN heterodimérico el cual se compone por dos proteínas hélice-bucle-hélice de la familia PAS, la HIF-1 $\beta$  que es constitutiva y una de las subunidades  $\alpha$  las cuales son estimuladas por la hipoxia, como HIF-1 $\alpha$  y HIF-2 $\alpha$  (103).

En condiciones de hipoxia el heterodímero  $\alpha/\beta$  se acopla a una secuencia central de pentanucleótidos en elementos que generan respuestas a la hipoxia de los genes dianas (104).

Se ha visualizado el rol clave de HIF-1 $\alpha$  como un factor necesario para generar la vascularización adecuada en un embrión de rata y de igual manera es necesario para coordinar la señalización de factores de crecimiento angiogénicos (105)(106)(107).

El HIF-1 $\alpha$  activa la transcripción de genes que están asociados a la angiogénesis y supervivencia celular. La expresión de varios genes diana de HIF-1, como el VEGF son inducidos por hipoxia y una amplia gama de respuestas celulares (108)(109)(110)(111).

Es conocido que la activación de HIF-1 $\alpha$  es un rasgo común en el desarrollo de los tumores y habitualmente presenta un incremento en los tumores con mayor agresividad (112)(113)(114)(115)(116).

Un estudio realizado en 2019 logró identificar que una amplia cantidad de dosis diferentes de glicina administradas durante la isquemia, generaban una disminución significativa en la expresión de HIF-1 $\alpha$ . (5).

## **2.4 FOSFOINOSITOL 3-QUINASAS (PI3K)**

La familia de PI3K forma parte de una gran variedad de proteínas quinasas de serina/treonina, dentro de las cuales se incluyen las enzimas fosfatidilinositol quinasas (PI3K). Esta vía es estimulada fisiológicamente debido a la activación de receptores de membrana tirosina quinasa (117)(118)(119)(120) .

Las PI3K se encargan de catalizar la producción de fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato (PIP3), el cual es un segundo mensajero que ayuda a activar la proteína Akt la cual activa la vía mTOR (121).

Estos lípidos se fosforilan en las membranas celulares durante la cascada de la señalización, contribuyendo al reclutamiento y activación de componentes implicados en la señalización celular en diferentes vías, tales como: vías de supervivencia celular, regulación de la expresión génica y el metabolismo celular (121).

Es bien conocido que la activación de esta vía de señalización conduce a una respuesta proliferativa y anti apoptótica relacionada con los múltiples tipos de cáncer en el cuerpo humano (122)(119)(120).

Un estudio indicó la relación de estas enzimas con la angiogénesis, los autores sugirieron que la vía PI3K posee una conexión con diferentes mecanismos asociados al desarrollo de enfermedades, tales como la diabetes y el cáncer (121).

## **2.5 DIANA DE RAPAMICINA EN CÉLULAS DE MAMIFERO (mTOR)**

La proteína mTOR es una serina/treonina quinasa, la cual se une con algunas proteínas y forma dos complejos funcionales: el complejo mTORC1 que contiene mTOR y RAPTOR y el complejo mTORC2 que contiene mTOR y RICTOR (14).

Se ha evidenciado que tanto el crecimiento de las células endoteliales como la formación de nuevas estructuras vasculares son interrumpidas por fármacos o alteraciones genéticas asociadas a la señalización de mTOR (17).

Un estudio realizado en ratones evidenció que la neovascularización en células endoteliales se redujo significativamente con la pérdida de Rictor, así comprobando de esta

manera que la ablación de Rictor genera una inhibición tanto en la proliferación como el en el ensamblaje de las células endoteliales (123).

Estos datos señalan que el complejo mTORC2 posee una participación fundamental en la angiogénesis mediada por VEGF, siendo un punto crítico en su cascada de señalización celular (123).

Lo mencionado anteriormente se correlaciona con un estudio previo en el cual se demostró que para la regulación de la angiogénesis se requiere de un complejo mTORC2 mediado por la quimiocina 12 con motivo CXC (CXCL12), la cual es una proteína quimioquina involucrada en diferentes funciones durante el transcurso de procesos inflamatorios (124).

Se sabe que CXCL12 y su respectivo receptor CXCR4 juegan un rol clave en la angiogénesis, esto debido al rol clave que posee la quimioquina regulando positivamente la angiogénesis mediante la migración de células endoteliales y la formación de vasos sanguíneos (124)(125).

### **3. VÍAS DE SEÑALIZACIÓN CELULARES IMPLICADAS EN LA FUNCIÓN ENDOTELIAL.**

#### **3.1 Vía VEGFR2/ pSTAT3**

El receptor del factor de crecimiento endotelial vascular 2 (VEGFR2) se ha determinado que es un mediador crucial de la proliferación celular y la supervivencia. Dos receptores tirosina quinasa VEGF de alta afinidad fueron identificados en células endoteliales (VEGFR1 Y VEGFR2) (126).

Un estudio logró evidenciar que la gran mayoría de las funciones de VEGF están mediadas de manera directa por su interacción con VEGFR2, en base a esto los autores han señalado

que la señalización de VEGF/VEGFR2 puede establecer un vínculo molecular de gran importancia para la neurogénesis y angiogénesis (127).

Es de suma importancia señalar que las neuronas de los ganglios cervicales y espinales expresan el receptor VEGFR-2, esto fue comprobado por un estudio realizado en ganglios cultivados de ratones adultos (96).

En el estudio se logró señalar que posterior a la aplicación de la inmunotinción doble de VEGFR-2 y VEGF se observaron coexpresiones de ambos en gran cantidad de neuronas ubicadas en los ganglios cervicales superiores (SCG) y ganglios de la raíz dorsal (DRG) respectivamente (96).

Diferentes autores han demostrado mediante estudios en modelos de animales que la falta de expresión de VEGFR-2 conlleva a la muerte embrionaria y a su vez a la formación patológica de los vasos sanguíneos (128).

Esto se ha mencionado en otra revisión posterior de los mismos autores donde se señaló finalmente que el cierre en la totalidad de VEGFR-2 lleva a una disminución del desarrollo vascular y por ende de la angiogénesis (129).

Un estudio demostró que la estimulación periférica en un modelo de ratas generó un aumento en la expresión de VEGF, la angiogénesis y la neurogénesis. El efecto contrario fue evidenciado mediante el uso de un inhibidor selectivo de VEGFR2 (130).

La estimulación periférica permitió la migración de neuroblastos a lo largo de los vasos sanguíneos y el desarrollo de la neurogénesis vinculado a la señalización de VEGF/VEGFR2 (130).

Se conoce que los cambios en secuencias genéticas que afectan la expresión de la estructura de VEGFR-2 interrumpen los procesos vinculados a la angiogénesis. Diferentes mutaciones en el gen VEGFR2 pueden generar tumores vasculares y de esta manera llevar a una angiogénesis de tipo patológica (131).

Respecto a la activación de VEGFR-1 se ha visto que posee la capacidad de inducir cambios vinculados con la permeabilidad vascular, migración de monocitos, hematopoyesis y desarrollo de células endoteliales (132).

Un experimento realizado en ratas logró evidenciar que la desactivación de VEGFR-1 posee un resultado fatal para las ratas, esto debido al crecimiento excesivo de las células endoteliales y la desorganización de los vasos embrionarios (132).

Se ha generado una hipótesis asociada a la principal función de VEGFR-1 la que señala que la función de este receptor no solo está relacionado con la transmisión de la señal

mitótica, sino que también se relaciona con la regulación negativa de VEGF-A en las células endoteliales (133).

Un estudio reciente logró evidenciar que el receptor VEGFR2 cuando es activado por ligando genera la principal señal angiogénica desarrollada en células endoteliales, regulando positivamente a la angiogénesis (5).

Se ha demostrado que VEGF es capaz de activar la vía STAT a través de VEGFR2, este hallazgo sugiere un papel para las proteínas STATs en la regulación de la expresión génica asociada con los efectos angiogénicos de VEGF (16).

La familia de proteínas STAT (transductores de señal y activadores de la transcripción) son moduladores importantes de las respuestas de crecimiento celular inducidas por receptores de factores de crecimiento (134).

STAT3 es una proteína de señalización de consenso común para la activación de diferentes receptores de tirosina quinasa (135). Evidencia consistente sugiere a las tirosina quinasas receptoras y no receptoras, como importantes inductores de VEGF (135).

Análisis bioquímicos y moleculares han identificado que la actividad de las proteínas STAT es regulada principalmente por la fosforilación en residuos de tirosina, lo que a su vez genera que ocurra una dimerización en los STAT que suele ir seguida con una translocación al núcleo. Dentro del núcleo estas proteínas reconocen y se unen a sitios de ADN consensuado que representan secuencias de potenciadores para una variedad de genes, incluyendo los genes inmediatos de respuesta al crecimiento temprano (136).

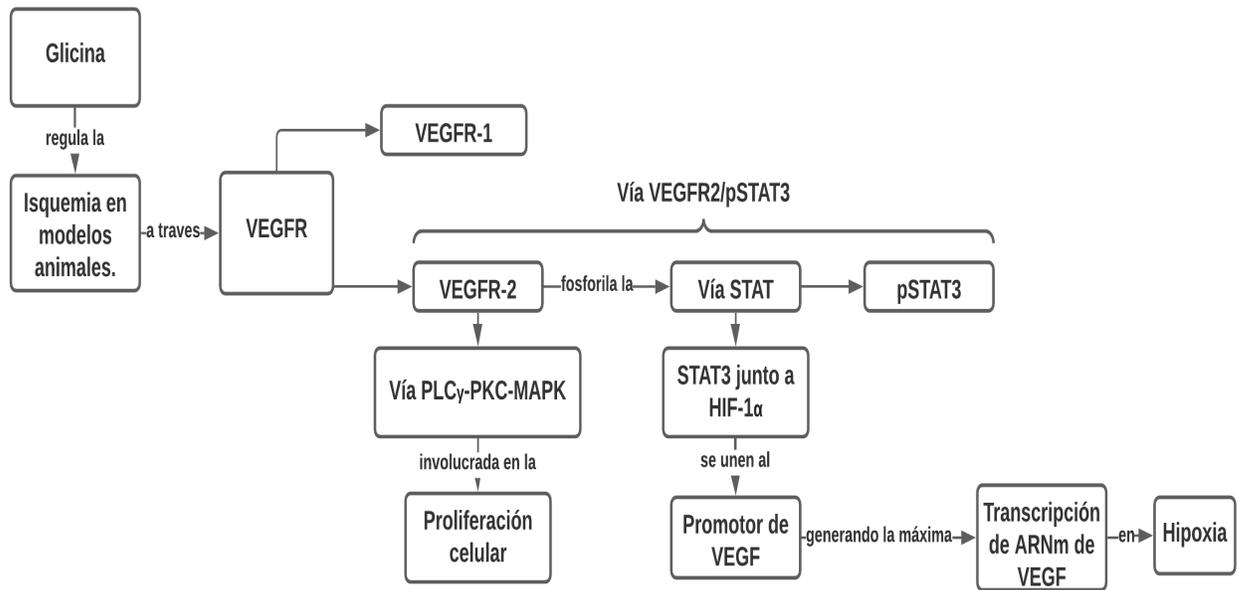
Se conoce que la vía PLC $\gamma$ -PKC-MAPK está altamente activada en el receptor VEGFR-2 unido a VEGF y es utilizada como una señal esencial para la proliferación celular durante la angiogénesis (5).

Un estudio reciente demostró que el remodelado neurovascular dependiente de GlyR $\alpha$ 2 se correlaciona con la vía VEGFR2/pSTAT3, esto se realizó mediante la exploración del mecanismo por el cual GlyR $\alpha$ 2 confiere protección neurovascular, mediante técnicas de inmunohistoquímica e inmunofluorescencia para analizar las vías implicadas (16).

Los resultados indicaron que tanto la expresión de VEGFR2 como la expresión de VEGF estaban reguladas por la administración de glicina en el tratamiento en animales con isquemia, además se encontró que la expresión VEGFR2 se co-localizaba con la expresión de pSTAT3 (16).

Anteriormente en un estudio sus autores indicaron que la expresión de VEGF se correlacionaba directamente con la actividad de STAT3 en diversas líneas celulares asociadas al cáncer humano. (135)

Se ha demostrado que la unión de STAT3 con HIF-1 $\alpha$  al promotor de VEGF es de suma importancia para la máxima transcripción de ARNm de VEGF en condiciones de hipoxia.  
(137)



**Fig. 1: Señalización vía VEGFR-2/p STAT3. VEGFR2 puede activar la vía STAT, sugiriendo un rol para las proteínas STATs en la regulación de la expresión asociada a efectos angiogénicos de VEGF. Elaboración propia.**

### 3.2 Vía GlyT1- Glycine- mTOR – VDAC1

Recientemente un estudio proporcionó evidencia de que VEGF estimuló la migración celular endotelial, proliferación y angiogénesis a través del eje GlyT1- glycine- mTOR-VDAC1 (15).

Los resultados del estudio sugirieron que la glicina es necesaria en la señalización VEGF mediante la promoción de la función mitocondrial a través de la inhibición de la apertura de VDAC1 (canal 1 selectivo de aniones dependiente de voltaje) (15)

La función mitocondrial mejorada fue identificada activando la trayectoria de la señalización inducida por mTOR y sus efectos se fundamentan directamente con la presencia de glicina en las células (15).

La activación y señalización inducida por mTOR es una de las vías principales que regulan las funciones en células endoteliales, incluyendo la proliferación, supervivencia y migración (134).

Es bien sabido que la glicina genera un efecto protector frente al agotamiento de la energía celular, esto a través de su capacidad de promover el metabolismo asociado a las funciones intracelulares y mitocondriales (12)(138).

Un estudio identificó que la glicina posee la capacidad de disminuir el daño producido en la lesión hipóxico-isquémica en el cerebro, mejorando directamente la función mitocondrial (15).

De igual manera sus autores mencionaron que la administración de glicina generó una regulación negativa de las proteínas vinculadas con la autofagia mediada por mitocondrias (15).

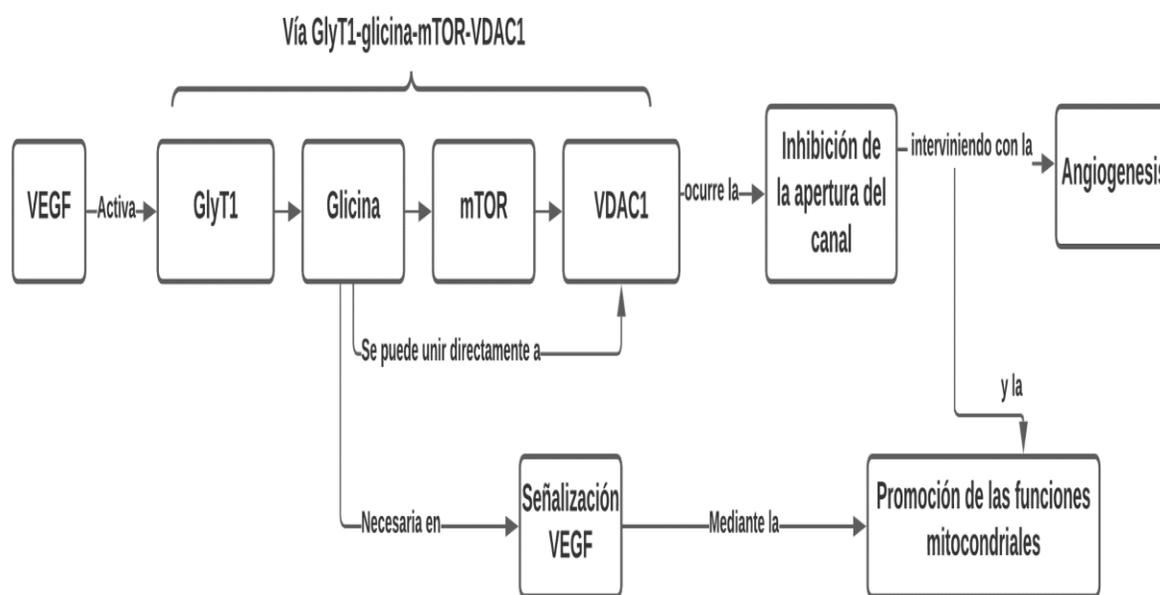
Es imperativo mencionar que los fármacos o químicos que generan una vasoconstricción o una alteración en la función mitocondrial pueden producir isquemia o un tipo de lesión similar (15).

Se demostró que la glicina puede unirse directamente a VDAC1 e inhibir su apertura lo que puede desencadenar finalmente una interferencia en las funciones mitocondriales y la angiogénesis (15).

Hay diferentes proteínas tales como parquin, PINK1, Bnip3 y LC3 II/I que su expresión se produce en procesos asociados a la isquemia en tejidos celulares. Entre estas Bnip3 pertenece a la familia de proteínas Bcl-2, la cual es sensible a la hipoxia y está vinculada con la autofagia celular (5).

Estas proteínas presentan una disminución significativa después del tratamiento con glicina debido a su capacidad de mejorar o rescatar mitocondrias disfuncionales, de igual manera se evidenció una disminución en la autofagia celular (5).

Así los mecanismos beneficiosos que posee la administración de glicina en ensayos con modelos animales está estrechamente vinculada con su capacidad de prevenir el estrés oxidativo, mantener el entorno redox de la célula y mantener un funcionamiento correcto de la mitocondria (15)(138).



**Fig. 2: Señalización via GlyT1/Glicina/mTOR/VDAC1.** Elaboración propia.

### 3.3 Vía PI3K/akt/mTOR

La vía de señalización PI3K/akt/mTOR es de suma importancia para diferentes tipos de funciones, tales como supervivencia, proliferación, metabolismo y homeostasis (139). De igual manera se ha demostrado que esta vía es responsable de la regulación de la angiogénesis (17).

Un estudio indicó que la inhibición de la señalización PI3K/ akt/ mTOR altera el desarrollo vascular. Es bien conocido que el papel de la vía de señalización está involucrado en el desarrollo vascular y en los efectos bifásicos de la glicina en la angiogénesis (14)(17).

Cuando hay una inhibición de la vía PI3K/ akt/ mTOR se genera un bloqueo en el alargamiento vascular promovido por bajas concentraciones de glicina (14). Esto según sus autores es clave para la correlación de la vía señalada con la angiogénesis vascular mediada por glicina (14).

Los autores señalaron que Akt controla la síntesis de proteínas y el crecimiento celular al conducir a la fosforilación de mTOR, de esta forma cumple un rol indispensable para generar el efecto angiogénico (14)(17).

Los resultados demostraron que el tratamiento con inhibidores de mTORC1 (rapamicina y everolimus), inhibidores de m TORC1/m TORC2 (KU0063794), PI3K (LY29400) y Akt (inhibidor de Akt) generó una disminución del desarrollo de vasos intersegmentarios (ISV) en embriones de pez cebra (14).

Los inhibidores anulaban el efecto angiogénico de una dosis baja de glicina, mientras que actuaron de manera sinérgica al existir dosis altas de glicina contribuyendo a la antiangiogénesis (14).

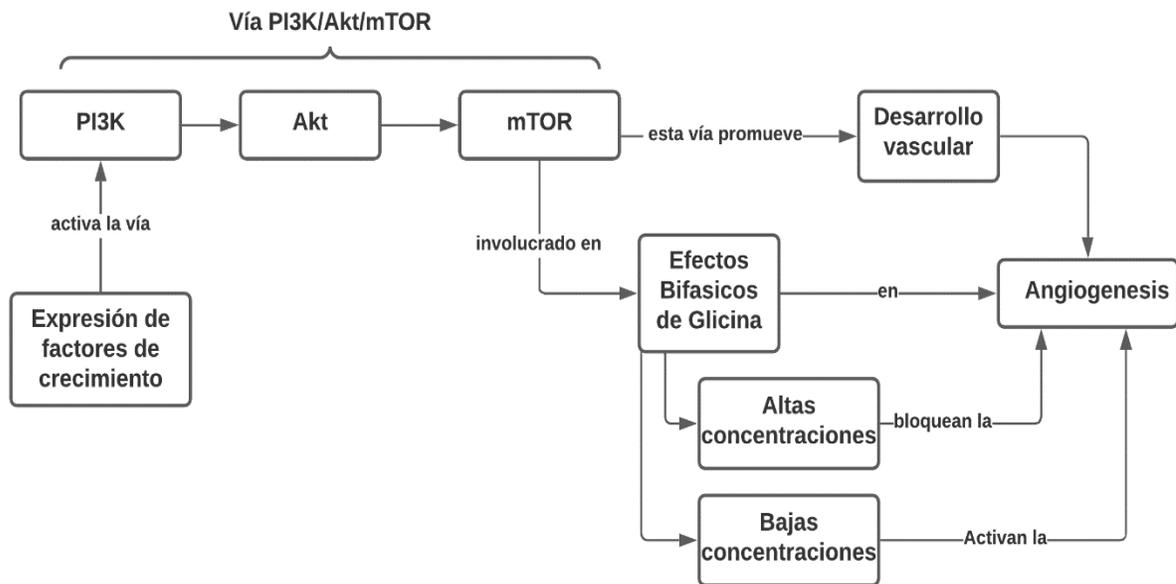
Los autores sugieren a la señalización de PI3K/Akt/mTOR se relaciona con la angiogénesis mediante los efectos bifásicos dependientes de la dosis de glicina exógena en vivo. La señalización generada por mTOR es un objetivo clave en la terapia asociada al cáncer, por lo que, la combinación de inhibidores de mTOR junto a la glicina en dosis bajas puede generar un enfoque como una diana terapéutica para el control de la angiogénesis (14).

La activación de PI3K puede ocurrir a través de una mutación RAS, pérdida de homólogo de fosfatasa y tensina (PTEN), o por una mayor expresión de receptores de factores de crecimiento (17).

Se ha indicado que la sobreexpresión de la enzima mitocondrial serina hidroximetiltransferasa 2 (SHMT2) generó un incremento en la proliferación celular a través de la señalización de mTOR mediada por glicina (140).

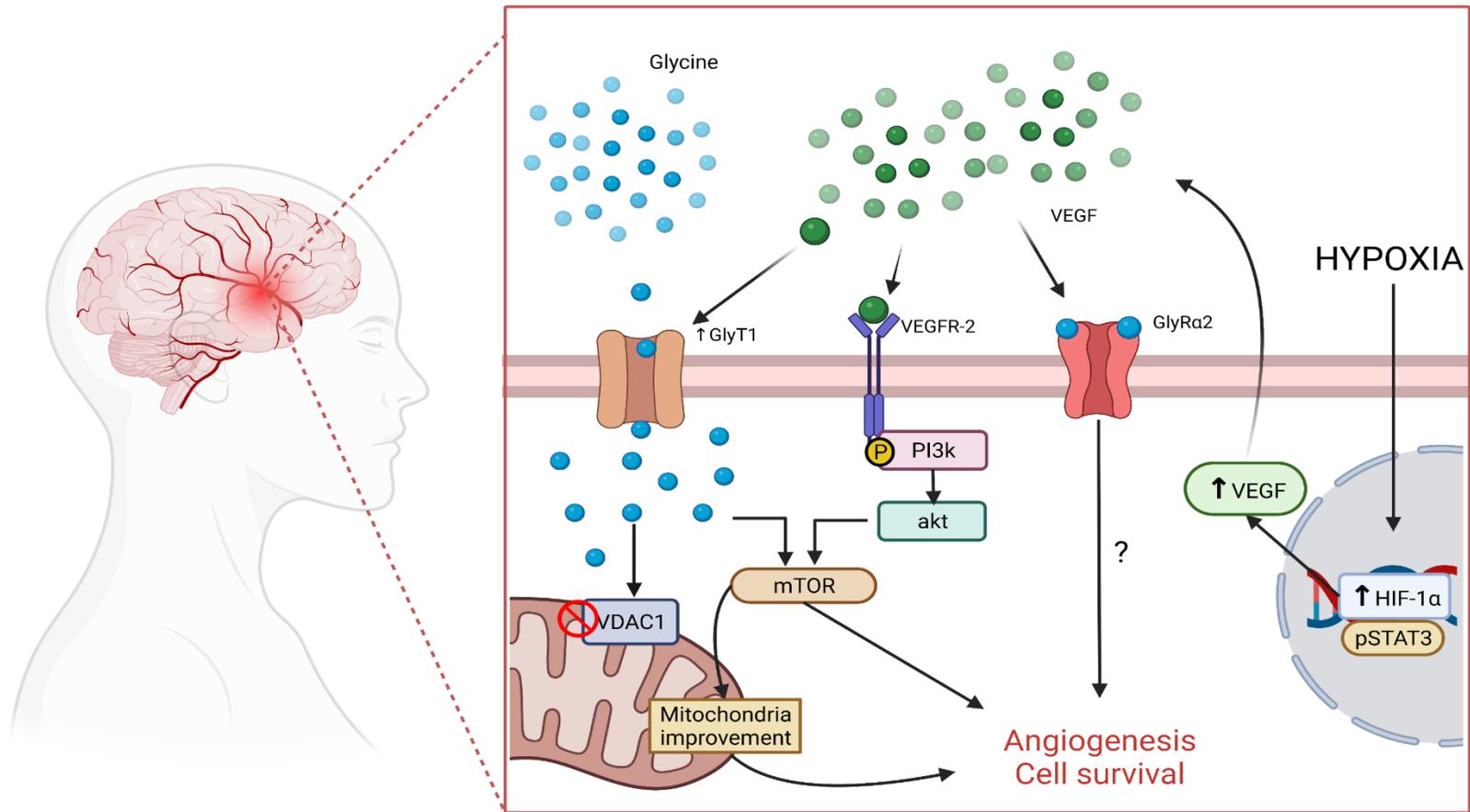
La enzima SHMT2 cataliza la síntesis de glicina intracelular por lo que los autores al generar un aumento en su expresión obtuvieron un incremento en los niveles intracelulares de glicina, este aumento generó la activación de mTOR de manera dependiente de Akt. Los efectos generados por la sobreexpresión de la enzima fueron bloqueados al usarse un inhibidor de PI3K in vitro (LY294002) (140).

Cabe destacar que se ha identificado que la activación de la ruta PI3K está implicada en la función promotora de la supervivencia de VEGF. Lo que sugiere que las interacciones moleculares entre STAT3 y PI3K pueden ser importantes dentro de la regulación de la supervivencia de las células endoteliales (134).



**Fig. 3: Señalización vía PI3K/Akt/mTOR.** Elaboración propia.





**Fig. 5: Señalizaciones celulares involucradas en la función endotelial.** Elaboración propia.

## CONCLUSIONES

Se puede concluir que la glicina junto a sus respectivos receptores posee un amplio espectro de propiedades protectoras asociadas a la regulación de la angiogénesis en diferentes mecanismos patológicos, contrarrestando una serie de lesiones producidas por la isquemia en diferentes tipos de enfermedades y lesiones del organismo.

La glicina junto a sus receptores se vincula con un rol protector gracias a su función antiinflamatoria, inmunomoduladora y citoprotectora. En base a esto y su capacidad para disminuir el daño producido por lesiones que afecten al sistema vascular, se vuelve necesario la existencia de nuevos estudios que tengan como objetivo el investigar los efectos de este aminoácido, sobre el desarrollo de la angiogénesis en las lesiones vasculares del organismo donde existen mecanismos patológicos relacionados con la isquemia, involucrando a múltiples moléculas intermediarias que se encargan de la regulación del sistema vascular.

En la actualidad se hace de gran necesidad la exploración de posibles tratamientos con agentes protectores en humanos con el fin de reducir el daño asociado a las enfermedades y las lesiones, por lo que es de suma importancia el desarrollo y estudio de dianas terapéuticas tales como la glicina y sus receptores, con el propósito de conocer su interacción con la angiogénesis y la reparación tisular posterior a la isquemia en los tejidos.

Todo esto con el fin de estudiar una posible diana terapéutica en humanos que genere una disminución del daño isquémico asociado a este tipo de lesiones y de esta forma mejore el pronóstico de la enfermedad, destacando el rol de la glicina junto a sus receptores como una nueva diana terapéutica.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Rajendra S, Lynch JW, Schofield PR. The glycine receptor. *Pharmacol Ther* [Internet]. 1997;73(2):121–46. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9131721>
2. Dingledine R, Borges K, Bowie D, Traynelis SF. The glutamate receptor ion channels. *Pharmacol Rev* [Internet]. 1999 Mar;51(1):7–61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10049997>
3. Paoletti P. Molecular basis of NMDA receptor functional diversity. *Eur J Neurosci* [Internet]. 2011 Apr;33(8):1351–65. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1460-9568.2011.07628.x>
4. Hall JC. Review: Glycine. *J Parenter Enter Nutr* [Internet]. 1998 Nov 2;22(6):393–8. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1177/0148607198022006393>
5. Cai C, Zhu J, Ye L, Dai Y, Fang M, Hu Y, et al. Glycine Protects against Hypoxic-Ischemic Brain Injury by Regulating Mitochondria-Mediated Autophagy via the AMPK Pathway. *Oxid Med Cell Longev* [Internet]. 2019 Feb 6;2019:1–29. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2019/4248529/>
6. Zhong Z, Enomoto N, Connor HD, Moss N, Mason RP, Thurman RG. GLYCINE IMPROVES SURVIVAL AFTER HEMORRHAGIC SHOCK IN THE RAT. *Shock* [Internet]. 1999 Jul;12(1):54–62. Available from: <http://journals.lww.com/00024382-199907000-00008>
7. Zhong Z, Connor HD, Yin M, Moss N, Mason RP, Bunzendahl H, et al. Dietary Glycine and Renal Denervation Prevents Cyclosporin A-Induced Hydroxyl Radical Production in Rat Kidney. *Mol Pharmacol* [Internet]. 1999 Sep 1;56(3):455–63. Available from: <http://molpharm.aspetjournals.org/lookup/doi/10.1124/mol.56.3.455>
8. Yin M, Zhong Z, Connor HD, Bunzendahl H, Finn WF, Rusyn I, et al. Protective effect of glycine on renal injury induced by ischemia-reperfusion in vivo. *Am J Physiol Physiol* [Internet]. 2002 Mar 1;282(3):F417–23. Available from:

<https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajprenal.00011.2001>

9. Deters M, Strubelt O, Younes M. Protection by glycine against hypoxia-reoxygenation induced hepatic injury. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* [Internet]. 1997 Aug;97(2):199–213. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9344232>
10. Mauriz J., Matilla B, Culebras J., González P, González-Gallego J. Dietary glycine inhibits activation of nuclear factor kappa B and prevents liver injury in hemorrhagic shock in the rat. *Free Radic Biol Med* [Internet]. 2001 Nov;31(10):1236–44. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S089158490100716X>
11. Wolfgang Grotz MR, Pape H-C, van Griensven M, Stalp M, Rohde F, Bock D, et al. GLYCINE REDUCES THE INFLAMMATORY RESPONSE AND ORGAN DAMAGE IN A TWO-HIT SEPSIS MODEL IN RATS. *Shock* [Internet]. 2001 Aug;16(2):116–21. Available from: <http://journals.lww.com/00024382-200116020-00006>
12. Nichols JC, Bronk SF, Mellgren RL, Gores GJ. Inhibition of nonlysosomal calcium-dependent proteolysis by glycine during anoxic injury of rat hepatocytes. *Gastroenterology* [Internet]. 1994 Jan;106(1):168–76. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016508594951470>
13. 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* [Internet]. 2020 Jun;527(2):539–44. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006291X2030824X>
14. Tsuji-Tamura K, Sato M, Fujita M, Tamura M. The role of PI3K/Akt/mTOR signaling in dose-dependent biphasic effects of glycine on vascular development. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2020 Aug;529(3):596–602. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006291X20313036>
15. 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* [Internet]. 2017 Dec 7;7(1):14749. Available from: <http://www.nature.com/articles/s41598-017-15246-3>

16. 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* [Internet]. 2020;12(10):6895–907. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33194080>
17. Karar J, Maity A. PI3K/AKT/mTOR Pathway in Angiogenesis. *Front Mol Neurosci* [Internet]. 2011;4. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnmol.2011.00051/abstract>
18. Nagatomi A, Sakaida I, Matsumura Y, Okita K. Cytoprotection by glycine against hypoxia-induced injury in cultured hepatocytes. *Liver* [Internet]. 2008 Dec 10;17(2):57–62. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1600-0676.1997.tb00781.x>
19. Schilling, M., Den Butter, G., Marsh, D. C., Belzer, F. O., & Southard JH. Glycine inhibits phospholipolysis of hypoxic membranes. 1994;6(Tx Med):140–3.
20. Hensley K, Robinson KA, Gabbita SP, Salsman S, Floyd RA. Reactive oxygen species, cell signaling, and cell injury. *Free Radic Biol Med* [Internet]. 2000 May;28(10):1456–62. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0891584900002525>
21. Ryan TP, Aust SD. The Role of Iron in Oxygen-Mediated Toxicities. *Crit Rev Toxicol* [Internet]. 1992 Jan 25;22(2):119–41. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/10408449209146308>
22. Nishimura Y, Romer LH, Lemasters JJ. Mitochondrial dysfunction and cytoskeletal disruption during chemical hypoxia to cultured rat hepatic sinusoidal endothelial cells: The pH paradox and cytoprotection by glucose, acidotic pH, and glycine. *Hepatology* [Internet]. 1998 Apr;27(4):1039–49. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/hep.510270420>
23. Qian T, Nieminen A-L, Herman B, Lemasters JJ. Mitochondrial permeability transition in pH-dependent reperfusion injury to rat hepatocytes. *Am J Physiol Physiol* [Internet]. 1997 Dec 1;273(6):C1783–92. Available from: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpcell.1997.273.6.C1783>

24. Marsh DC, Vreugdenhil PK, Mack VE, Belzer FO, Southard JH. Glycine protects hepatocytes from injury caused by anoxia, cold ischemia and mitochondrial inhibitors, but not injury caused by calcium ionophores or oxidative stress. *Hepatology* [Internet]. 1993 Jan;17(1):91–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8423046>
25. Venkatachalam MA, Weinberg JM, Patel Y, Saikumar P, Dong Z. Cytoprotection of kidney epithelial cells by compounds that target amino acid gated chloride channels. *Kidney Int* [Internet]. 1996 Feb;49(2):449–60. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0085253815593587>
26. Weinberg JM, Davis JA, Abarzua M, Kiani T. Relationship between cell adenosine triphosphate and glutathione content and protection by glycine against hypoxic proximal tubule cell injury. *J Lab Clin Med* [Internet]. 1989 May;113(5):612–22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2715683>
27. Schemmer P, Bradford BU, Rose ML, Bunzendahl H, Raleigh JA, Lemasters JJ, et al. Intravenous glycine improves survival in rat liver transplantation. *Am J Physiol Liver Physiol* [Internet]. 1999 Apr 1;276(4):G924–32. Available from: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpgi.1999.276.4.G924>
28. Estacion M, Weinberg JS, Sinkins WG, Schilling WP. Blockade of maitotoxin-induced endothelial cell lysis by glycine and alanine. *Am J Physiol Physiol* [Internet]. 2003 Apr 1;284(4):C1006–20. Available from: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpcell.00258.2002>
29. Nishimura Y, Lemasters JJ. Glycine blocks opening of a death channel in cultured hepatic sinusoidal endothelial cells during chemical hypoxia. *Cell Death Differ* [Internet]. 2001 Aug 24;8(8):850–8. Available from: <http://www.nature.com/articles/4400877>
30. Weinberg JM, Varani J, Johnson KJ, Roeser NF, Dame MK, Davis JA, et al. Protection of human umbilical vein endothelial cells by glycine and structurally similar amino acids against calcium and hydrogen peroxide-induced lethal cell injury. *Am J Pathol* [Internet]. 1992 Feb;140(2):457–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1739136>

31. Zhang Y, Ikejima K, Honda H, Kitamura T, Takei Y, Sato N. Glycine Prevents Apoptosis of Rat Sinusoidal Endothelial Cells Caused by Deprivation of Vascular Endothelial Growth Factor. *Hepatology* [Internet]. 2000 Sep;32(3):542–6. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1053/jhep.2000.16605>
32. Betz H, Laube B. Glycine receptors: recent insights into their structural organization and functional diversity. *J Neurochem* [Internet]. 2006 Jun;97(6):1600–10. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1471-4159.2006.03908.x>
33. Grudzinska J, Schemm R, Haeger S, Nicke A, Schmalzing G, Betz H, et al. The  $\beta$  Subunit Determines the Ligand Binding Properties of Synaptic Glycine Receptors. *Neuron* [Internet]. 2005 Mar;45(5):727–39. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0896627305000607>
34. Galaz P, Barra R, Figueroa H, Mariqueo T. Advances in the pharmacology of IGICs auxiliary subunits. *Pharmacol Res* [Internet]. 2015 Nov;101:65–73. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1043661815001590>
35. Dutertre S, Becker C-M, Betz H. Inhibitory Glycine Receptors: An Update. *J Biol Chem* [Internet]. 2012 Nov;287(48):40216–23. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021925820621652>
36. Ikejima K, Iimuro Y, Forman DT, Thurman RG. A diet containing glycine improves survival in endotoxin shock in the rat. *Am J Physiol Liver Physiol* [Internet]. 1996 Jul 1;271(1):G97–103. Available from: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpgi.1996.271.1.G97>
37. Li X, Bradford BU, Wheeler MD, Stimpson SA, Pink HM, Brodie TA, et al. Dietary Glycine Prevents Peptidoglycan Polysaccharide-Induced Reactive Arthritis in the Rat: Role for Glycine-Gated Chloride Channel. Moore RN, editor. *Infect Immun* [Internet]. 2001 Sep;69(9):5883–91. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/IAI.69.9.5883-5891.2001>
38. Wheeler MD, Rose ML, Yamashima S, Enomoto N, Seabra V, Madren J, et al. Dietary glycine blunts lung inflammatory cell influx following acute endotoxin. *Am J Physiol Cell Mol Physiol* [Internet]. 2000 Aug 1;279(2):L390–8. Available from:

<https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajplung.2000.279.2.L390>

39. WHEELER M, STACHLEWITZ RF, YAMASHINA S, IKEJIMA K, MORROW AL, THURMAN RG. Glycine-gated chloride channels in neutrophils attenuate calcium influx and superoxide production. *FASEB J* [Internet]. 2000 Mar;14(3):476–84. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1096/fasebj.14.3.476>
40. Stachlewitz RF, Li X, Smith S, Bunzendahl H, Graves LM, Thurman RG. Glycine Inhibits Growth of T Lymphocytes by an IL-2-Independent Mechanism. *J Immunol* [Internet]. 2000 Jan 1;164(1):176–82. Available from: <http://www.jimmunol.org/lookup/doi/10.4049/jimmunol.164.1.176>
41. Qu W, Ikejima K, Zhong Z, Waalkes MP, Thurman RG. Glycine blocks the increase in intracellular free Ca<sup>2+</sup> due to vasoactive mediators in hepatic parenchymal cells. *Am J Physiol Liver Physiol* [Internet]. 2002 Dec 1;283(6):G1249–56. Available from: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpgi.00197.2002>
42. Yamashina S, Konno A, Wheeler MD, Rusyn I, Rusyn E V., Cox AD, et al. Endothelial Cells Contain a Glycine-Gated Chloride Channel. *Nutr Cancer* [Internet]. 2001 May;40(2):197–204. Available from: [http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1207/S15327914NC402\\_17](http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1207/S15327914NC402_17)
43. Miller GW, Schnellmann R. A putative cytoprotective receptor in the kidney: Relation to the neuronal strychnine-sensitive glycine receptor. *Life Sci* [Internet]. 1994 Jan;55(1):27–34. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0024320594900787>
44. Tang B, Lummis SCR. Multiple regions in the extracellular domain of the glycine receptor determine receptor activity. *J Biol Chem* [Internet]. 2018 Sep;293(36):13889–96. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021925820309431>
45. Grudzinska J, Schemm R, Haeger S, Nicke A, Schmalzing G, Betz H, et al. The beta subunit determines the ligand binding properties of synaptic glycine receptors. *Neuron* [Internet]. 2005 Mar 3;45(5):727–39. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15748848>

46. Yevenes GE, Zeilhofer HU. Allosteric modulation of glycine receptors. *Br J Pharmacol* [Internet]. 2011 Sep 1;164(2):224–36. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1476-5381.2011.01471.x>
47. Farley N-MM, Mihic SJ. Allosteric modulation of the glycine receptor activated by agonists differing in efficacy. *Brain Res* [Internet]. 2015 May;1606:95–101. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006899315001249>
48. Laube B, Maksay G, Schemm R, Betz H. Modulation of glycine receptor function: a novel approach for therapeutic intervention at inhibitory synapses? *Trends Pharmacol Sci* [Internet]. 2002 Nov;23(11):519–27. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165614702021387>
49. Burgos CF, Muñoz B, Guzman L, Aguayo LG. Ethanol effects on glycinergic transmission: From molecular pharmacology to behavior responses. *Pharmacol Res* [Internet]. 2015 Nov;101:18–29. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1043661815001358>
50. Burgos CF, Yévenes GE, Aguayo LG. Structure and Pharmacologic Modulation of Inhibitory Glycine Receptors. *Mol Pharmacol* [Internet]. 2016 Sep;90(3):318–25. Available from: <http://molpharm.aspetjournals.org/lookup/doi/10.1124/mol.116.105726>
51. Lobo IA, Harris RA, Trudell JR. Cross-linking of sites involved with alcohol action between transmembrane segments 1 and 3 of the glycine receptor following activation. *J Neurochem* [Internet]. 2008 Mar;104(6):1649–62. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1471-4159.2007.05090.x>
52. Xiong W, Wu X, Lovinger DM, Zhang L. A Common Molecular Basis for Exogenous and Endogenous Cannabinoid Potentiation of Glycine Receptors. *J Neurosci* [Internet]. 2012 Apr 11;32(15):5200–8. Available from: <https://www.jneurosci.org/lookup/doi/10.1523/JNEUROSCI.6347-11.2012>
53. Xiong W, Cheng K, Cui T, Godlewski G, Rice KC, Xu Y, et al. Cannabinoid potentiation of glycine receptors contributes to cannabis-induced analgesia. *Nat Chem Biol* [Internet]. 2011 May 3;7(5):296–303. Available from:

<http://www.nature.com/articles/nchembio.552>

54. Yang Z, Aubrey KR, Alroy I, Harvey RJ, Vandenberg RJ, Lynch JW. Subunit-specific modulation of glycine receptors by cannabinoids and N-arachidonyl-glycine. *Biochem Pharmacol* [Internet]. 2008 Oct;76(8):1014–23. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006295208005273>
55. 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* [Internet]. 2020 Dec 27;11(1):3752. Available from: <http://www.nature.com/articles/s41467-020-17364-5>
56. Wang D-S, Mangin J-M, Moonen G, Rigo J-M, Legendre P. Mechanisms for Picrotoxin Block of  $\alpha 2$  Homomeric Glycine Receptors. *J Biol Chem* [Internet]. 2006 Feb;281(7):3841–55. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021925819483634>
57. Miller PS, Harvey RJ, Smart TG. Differential agonist sensitivity of glycine receptor  $\alpha 2$  subunit splice variants. *Br J Pharmacol* [Internet]. 2004 Sep;143(1):19–26. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1038/sj.bjp.0705875>
58. Chirila AM, Brown TE, Bishop RA, Bellono NW, Pucci FG, Kauer JA. Long-term potentiation of glycinergic synapses triggered by interleukin 1 $\beta$ . *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2014 Jun 3;111(22):8263–8. Available from: <https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.1401013111>
59. Kawasaki Y, Zhang L, Cheng J-K, Ji R-R. Cytokine Mechanisms of Central Sensitization: Distinct and Overlapping Role of Interleukin-1 , Interleukin-6, and Tumor Necrosis Factor- in Regulating Synaptic and Neuronal Activity in the Superficial Spinal Cord. *J Neurosci* [Internet]. 2008 May 14;28(20):5189–94. Available from: <https://www.jneurosci.org/lookup/doi/10.1523/JNEUROSCI.3338-07.2008>
60. Patrizio A, Renner M, Pizzarelli R, Triller A, Specht CG. Alpha subunit-dependent glycine receptor clustering and regulation of synaptic receptor numbers. *Sci Rep* [Internet]. 2017 Dec 7;7(1):10899. Available from:

<http://www.nature.com/articles/s41598-017-11264-3>

61. Solorza J, Oliva CA, Castillo K, Amestica G, Maldifassi MC, López-Cortés XA, et al. Effects of Interleukin-1 $\beta$  in Glycinergic Transmission at the Central Amygdala. *Front Pharmacol* [Internet]. 2021 Mar 5;12. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2021.613105/full>
62. Allan SM, Parker LC, Collins B, Davies R, Luheshi GN, Rothwell NJ. Cortical cell death induced by IL-1 is mediated via actions in the hypothalamus of the rat. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2000 May 9;97(10):5580–5. Available from: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.090464197>
63. Stroemer RP, Rothwell NJ. Exacerbation of Ischemic Brain Damage by Localized Striatal Injection of Interleukin-1 $\beta$  in the Rat. *J Cereb Blood Flow Metab* [Internet]. 1998 Aug 31;18(8):833–9. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1097/00004647-199808000-00003>
64. Yamasaki Y, Matsuura N, Shozuhara H, Onodera H, Itoyama Y, Kogure K. Interleukin-1 as a Pathogenetic Mediator of Ischemic Brain Damage in Rats. *Stroke* [Internet]. 1995 Apr;26(4):676–81. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/01.STR.26.4.676>
65. Eulenburg V, Armsen W, Betz H, Gomeza J. Glycine transporters: essential regulators of neurotransmission. *Trends Biochem Sci* [Internet]. 2005 Jun;30(6):325–33. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0968000405000940>
66. 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* [Internet]. 2016;38(5):1952–62. Available from: <https://www.karger.com/Article/FullText/445556>
67. Widlansky ME, Gutterman DD. Regulation of Endothelial Function by Mitochondrial Reactive Oxygen Species. *Antioxid Redox Signal* [Internet]. 2011 Sep 15;15(6):1517–30. Available from: <http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/ars.2010.3642>

68. Mudau M, Genis A, Lochner A, Strijdom H. Endothelial dysfunction: the early predictor of atherosclerosis. *Cardiovasc J Afr* [Internet]. 2012 May 14;23(4):222–31. Available from: [http://www.cvja.co.za/onlinejournal/vol23/vol23\\_issue4/#/44/](http://www.cvja.co.za/onlinejournal/vol23/vol23_issue4/#/44/)
69. Alberts B, Johnson A LJ y col. Vasos sanguíneos y células endoteliales. *Biol Mol la célula*. 2002;4(Vasos sanguíneos y células endoteliales).
70. Yau JW, Teoh H, Verma S. Endothelial cell control of thrombosis. *BMC Cardiovasc Disord* [Internet]. 2015 Dec 19;15(1):130. Available from: <http://bmccardiovascdisord.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12872-015-0124-z>
71. Rajendran P, Rengarajan T, Thangavel J, Nishigaki Y, Sakthisekaran D, Sethi G, et al. The Vascular Endothelium and Human Diseases. *Int J Biol Sci* [Internet]. 2013;9(10):1057–69. Available from: <http://www.ijbs.com/v09p1057.htm>
72. Muniyappa R, Sowers JR. Role of insulin resistance in endothelial dysfunction. *Rev Endocr Metab Disord* [Internet]. 2013 Mar 10;14(1):5–12. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11154-012-9229-1>
73. Seals DR, Jablonski KL, Donato AJ. Aging and vascular endothelial function in humans. *Clin Sci* [Internet]. 2011 May 1;120(9):357–75. Available from: <https://portlandpress.com/clinsci/article/120/9/357/68902/Aging-and-vascular-endothelial-function-in-humans>
74. Thosar SS, Johnson BD, Johnston JD, Wallace JP. Sitting and endothelial dysfunction: The role of shear stress. *Med Sci Monit* [Internet]. 2012;18(12):RA173–80. Available from: <http://www.medscimonit.com/abstract/index/idArt/883589>
75. Matte A, Federti E, Winter M, Koerner A, Harmeier A, Mazer N, et al. Bitopertin, a selective oral GLYT1 inhibitor, improves anemia in a mouse model of  $\beta$ -thalassemia. *JCI Insight* [Internet]. 2019 Nov 14;4(22). Available from: <https://insight.jci.org/articles/view/130111>
76. Cowled P FR. Fisiopatología de la lesión por reperfusión. *Mec la Enferm Vasc un Libr Ref para Espec Vasc*.
77. Hanada T, Yoshimura A. Regulation of cytokine signaling and inflammation.

- Cytokine Growth Factor Rev [Internet]. 2002 Aug;13(4–5):413–21. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1359610102000266>
78. Carmeliet P, Jain RK. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. *Nature* [Internet]. 2011 May 19;473(7347):298–307. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21593862>
79. Van den Eynden J. Glycine and glycine receptor signalling in non-neuronal cells. *Front Mol Neurosci* [Internet]. 2009;2. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/neuro.02.009.2009/abstract>
80. Froh M, Zhong Z, Walbrun P, Lehnert M, Netter S, Wiest R, et al. Dietary glycine blunts liver injury after bile duct ligation in rats. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2008;14(39):5996. Available from: <http://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v14/i39/5996.htm>
81. Stachlewitz RF, Seabra V, Bradford B, Bradham CA, Rusyn I, Germolec D, et al. Glycine and uridine prevent d-galactosamine hepatotoxicity in the rat: Role of kupffer cells. *Hepatology* [Internet]. 1999 Mar;29(3):737–45. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/hep.510290335>
82. 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* [Internet]. 2015 May;133(3):397–408. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jnc.12994>
83. Adams RH, Alitalo K. Molecular regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol* [Internet]. 2007 Jun;8(6):464–78. Available from: <http://www.nature.com/articles/nrm2183>
84. Plate KH, Beck H, Danner S, Allegrini PR, Wiessner C. Cell Type Specific Upregulation of Vascular Endothelial Growth Factor in an MCA-occlusion Model of Cerebral Infarct. *J Neuropathol Exp Neurol* [Internet]. 1999 Jun;58(6):654–66. Available from: <https://academic.oup.com/jnen/article-lookup/doi/10.1097/00005072-199906000-00010>

85. Zhang ZG, Zhang L, Tsang W, Soltanian-Zadeh H, Morris D, Zhang R, et al. Correlation of VEGF and Angiopoietin Expression with Disruption of Blood–Brain Barrier and Angiogenesis after Focal Cerebral Ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* [Internet]. 2002 Apr;22(4):379–92. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1097/00004647-200204000-00002>
86. Krum J., Mani N, Rosenstein J. Angiogenic and astroglial responses to vascular endothelial growth factor administration in adult rat brain. *Neuroscience* [Internet]. 2002 Apr;110(4):589–604. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306452201006157>
87. Jin K, Wang X, Xie L, Mao XO, Zhu W, Wang Y, et al. Evidence for stroke-induced neurogenesis in the human brain. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2006 Aug 29;103(35):13198–202. Available from: <https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.0603512103>
88. Matsuo R, Ago T, Kamouchi M, Kuroda J, Kuwashiro T, Hata J, et al. Clinical significance of plasma VEGF value in ischemic stroke - research for biomarkers in ischemic stroke (REBIOS) study. *BMC Neurol* [Internet]. 2013 Dec 8;13(1):32. Available from: <http://bmcneurol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2377-13-32>
89. Chen S, Huang W, Wang J, Zhang J, Wang W, Zhou M, et al. Soluble CD44 and vascular endothelial growth factor levels in patients with acute primary angle closure. *Acta Ophthalmol* [Internet]. 2015 Jun;93(4):e261–5. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/aos.12564>
90. Wang X, Sawada T, Sawada O, Saishin Y, Liu P, Ohji M. Serum and Plasma Vascular Endothelial Growth Factor Concentrations Before and After Intravitreal Injection of Aflibercept or Ranibizumab for Age-Related Macular Degeneration. *Am J Ophthalmol* [Internet]. 2014 Oct;158(4):738-744.e1. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002939414003560>
91. Kirstein M, Moore M, Dudek A. Review of Selected Patents for Cancer Therapy Targeting Tumor Angiogenesis. *Recent Pat Anticancer Drug Discov* [Internet]. 2006

- Jun 1;1(2):153–61. Available from: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1574-8928&volume=1&issue=2&spage=153>
92. Huang W, Chen S, Gao X, Yang M, Zhang J, Li X, et al. Inflammation-Related Cytokines of Aqueous Humor in Acute Primary Angle-Closure Eyes. *Investig Ophthalmology Vis Sci* [Internet]. 2014 Feb 24;55(2):1088. Available from: <http://iovs.arvojournals.org/article.aspx?doi=10.1167/iovs.13-13591>
  93. Srivastava MV, Talwar T. Role of vascular endothelial growth factor and other growth factors in post-stroke recovery. *Ann Indian Acad Neurol* [Internet]. 2014;17(1):1. Available from: <http://www.annalsofian.org/text.asp?2014/17/1/1/128519>
  94. Olsson A-K, Dimberg A, Kreuger J, Claesson-Welsh L. VEGF receptor signalling? in control of vascular function. *Nat Rev Mol Cell Biol* [Internet]. 2006 May;7(5):359–71. Available from: <http://www.nature.com/articles/nrm1911>
  95. Rud'ko AS, Efendieva MK, Budzinskaya M V., Karpilova MA. Influence of vascular endothelial growth factor on angiogenesis and neurogenesis. *Vestn oftal'mologii* [Internet]. 2017;133(3):75. Available from: <http://www.mediasphera.ru/issues/vestnik-oftalmologii/2017/3/downloads/ru/10042465X2017031075>
  96. Sondell M, Sundler F, Kanje M. Vascular endothelial growth factor is a neurotrophic factor which stimulates axonal outgrowth through the flk-1 receptor. *Eur J Neurosci* [Internet]. 2000 Dec;12(12):4243–54. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.0953-816X.2000.01326.x>
  97. Beazley-Long N, Hua J, Jehle T, Hulse RP, Dersch R, Lehring C, et al. VEGF-A165b Is an Endogenous Neuroprotective Splice Isoform of Vascular Endothelial Growth Factor A in Vivo and in Vitro. *Am J Pathol* [Internet]. 2013 Sep;183(3):918–29. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002944013004252>
  98. Sun Y, Jin K, Xie L, Childs J, Mao XO, Logvinova A, et al. VEGF-induced neuroprotection, neurogenesis, and angiogenesis after focal cerebral ischemia. *J Clin Invest* [Internet]. 2003 Jun 15;111(12):1843–51. Available from:

<http://www.jci.org/articles/view/17977>

99. Karamysheva AF. Mechanisms of angiogenesis. *Biochem* [Internet]. 2008 Jul 3;73(7):751–62. Available from: <http://link.springer.com/10.1134/S0006297908070031>
100. Hai J, Li S-T, Lin Q, Pan Q-G, Gao F, Ding M-X. Vascular Endothelial Growth Factor Expression and Angiogenesis Induced by Chronic Cerebral Hypoperfusion in Rat Brain. *Neurosurgery* [Internet]. 2003 Oct 1;53(4):963–72. Available from: <https://academic.oup.com/neurosurgery/article/53/4/963/2740028>
101. Hayashi T, Abe K, Itoyama Y. Reduction of Ischemic Damage by Application of Vascular Endothelial Growth Factor in Rat Brain after Transient Ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* [Internet]. 1998 Aug 31;18(8):887–95. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1097/00004647-199808000-00009>
102. Hu G, Feng Y, Lu W, Li H, Xie H, Li S. Effect of combined VEGF165/SDF-1 gene therapy on vascular remodeling and blood perfusion in cerebral ischemia. *J Neurosurg* [Internet]. 2017 Sep;127(3):670–8. Available from: <https://thejns.org/view/journals/j-neurosurg/127/3/article-p670.xml>
103. Wang GL, Jiang BH, Rue EA, Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O<sub>2</sub> tension. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 1995 Jun 6;92(12):5510–4. Available from: <https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.92.12.5510>
104. Gu Y-Z, Hogenesch JB, Bradfield CA. The PAS Superfamily: Sensors of Environmental and Developmental Signals. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* [Internet]. 2000 Apr;40(1):519–61. Available from: <https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.pharmtox.40.1.519>
105. Folkman J, Merler E, Abernathy C, Williams G. ISOLATION OF A TUMOR FACTOR RESPONSIBLE FOR ANGIOGENESIS. *J Exp Med* [Internet]. 1971 Feb 1;133(2):275–88. Available from: <https://rupress.org/jem/article/133/2/275/5989/ISOLATION-OF-A-TUMOR-FACTOR-RESPONSIBLE-FOR>

106. Ryan HE. HIF-1 $\alpha$  is required for solid tumor formation and embryonic vascularization. *EMBO J* [Internet]. 1998 Jun 1;17(11):3005–15. Available from: <http://emboj.embopress.org/cgi/doi/10.1093/emboj/17.11.3005>
107. Thurston G, Suri C, Smith K, McClain J, Sato TN, Yancopoulos GD, et al. Leakage-Resistant Blood Vessels in Mice Transgenically Overexpressing Angiopoietin-1. *Science* (80- ) [Internet]. 1999 Dec 24;286(5449):2511–4. Available from: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.286.5449.2511>
108. Semenza GL. Targeting HIF-1 for cancer therapy. *Nat Rev Cancer* [Internet]. 2003 Dec;3(10):721–32. Available from: <http://www.nature.com/articles/nrc1187>
109. Maxwell P. Activation of the HIF pathway in cancer. *Curr Opin Genet Dev* [Internet]. 2001 Jun 1;11(3):293–9. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0959437X00001933>
110. Lin C, McGough R, Aswad B, Block JA, Terek R. Hypoxia induces HIF-1 $\alpha$  and VEGF expression in chondrosarcoma cells and chondrocytes. *J Orthop Res* [Internet]. 2004 Nov;22(6):1175–81. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1016/j.orthres.2004.03.002>
111. Forsythe JA, Jiang BH, Iyer N V, Agani F, Leung SW, Koos RD, et al. Activation of vascular endothelial growth factor gene transcription by hypoxia-inducible factor 1. *Mol Cell Biol* [Internet]. 1996 Sep;16(9):4604–13. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/MCB.16.9.4604>
112. Ryan HE, Poloni M, McNulty W, Elson D, Gassmann M, Arbeit JM, et al. Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  is a positive factor in solid tumor growth. *Cancer Res* [Internet]. 2000 Aug 1;60(15):4010–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10945599>
113. Zhong H, De Marzo AM, Laughner E, Lim M, Hilton DA, Zagzag D, et al. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  in common human cancers and their metastases. *Cancer Res* [Internet]. 1999 Nov 15;59(22):5830–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10582706>

114. Talks KL, Turley H, Gatter KC, Maxwell PH, Pugh CW, Ratcliffe PJ, et al. The Expression and Distribution of the Hypoxia-Inducible Factors HIF-1 $\alpha$  and HIF-2 $\alpha$  in Normal Human Tissues, Cancers, and Tumor-Associated Macrophages. *Am J Pathol* [Internet]. 2000 Aug;157(2):411–21. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002944010645543>
115. Birner P, Schindl M, Obermair A, Plank C, Breitenecker G, Oberhuber G. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  is a marker for an unfavorable prognosis in early-stage invasive cervical cancer. *Cancer Res* [Internet]. 2000 Sep 1;60(17):4693–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10987269>
116. Zagzag D, Zhong H, Scalzitti JM, Laughner E, Simons JW, Semenza GL. Expression of hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  in brain tumors. *Cancer* [Internet]. 2000 Jun 1;88(11):2606–18. Available from: [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1097-0142\(20000601\)88:11%3C2606::AID-CNCR25%3E3.0.CO;2-W](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1097-0142(20000601)88:11%3C2606::AID-CNCR25%3E3.0.CO;2-W)
117. Hiles ID, Otsu M, Volinia S, Fry MJ, Gout I, Dhand R et al. Fosfatidilinositol 3-quinasa: estructura y expresión de la subunidad catalítica de 110 kd. *Célula*. 1992;419–29.
118. Fruman DA, Meyers RE CL. Fosfoinositido quinasas. *Annu Rev Biochem*. 1998;481–507.
119. OUDIT G. The role of phosphoinositide-3 kinase and PTEN in cardiovascular physiology and disease. *J Mol Cell Cardiol* [Internet]. 2004 Aug;37(2):449–71. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022282804001567>
120. DAVIES SP, REDDY H, CAIVANO M, COHEN P. Specificity and mechanism of action of some commonly used protein kinase inhibitors. *Biochem J* [Internet]. 2000 Oct 1;351(1):95. Available from: <http://www.biochemj.org/bj/351/bj3510095.htm>
121. Cantley LC. The Phosphoinositide 3-Kinase Pathway. *Science* (80- ) [Internet]. 2002 May 31;296(5573):1655–7. Available from: <https://www.sciencemag.org/lookup/doi/10.1126/science.296.5573.1655>

122. Pinzón, Carlos Eduardo, Serrano, Martha Lucía, & Sanabria MC. Papel de la vía fosfatidilinositol 3 kinasa (PI3K/Akt) en humanos. *Revista Ciencias de la Salud*; 2009. 47–66 p.
123. Yao W, Ji F, Chen Z, Zhang N, Ren S-Q, Zhang X-Y, et al. Glycine Exerts Dual Roles in Ischemic Injury Through Distinct Mechanisms. *Stroke* [Internet]. 2012 Aug;43(8):2212–20. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/STROKEAHA.111.645994>
124. Ziegler ME, Hatch MMS, Wu N, Muawad SA, Hughes CCW. mTORC2 mediates CXCL12-induced angiogenesis. *Angiogenesis* [Internet]. 2016 Jul 22;19(3):359–71. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s10456-016-9509-6>
125. SALCEDO R, OPPENHEIM JJ. Role of Chemokines in Angiogenesis: CXCL12/SDF-1 and CXCR4 Interaction, a Key Regulator of Endothelial Cell Responses. *Microcirculation* [Internet]. 2010 Jan 26;10(3–4):359–70. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1038/sj.mn.7800200>
126. Shibuya M. Role of VEGF-flt receptor system in normal and tumor angiogenesis. *Adv Cancer Res* [Internet]. 1995;67:281–316. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8571818>
127. Shimotake J, Derugin N, Wendland M, Vexler ZS, Ferriero DM. Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2 Inhibition Promotes Cell Death and Limits Endothelial Cell Proliferation in a Neonatal Rodent Model of Stroke. *Stroke* [Internet]. 2010 Feb;41(2):343–9. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/STROKEAHA.109.564229>
128. Carmeliet P, Ferreira V, Breier G, Pollefeyt S, Kieckens L, Gertsenstein M, et al. Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele. *Nature* [Internet]. 1996 Apr;380(6573):435–9. Available from: <http://www.nature.com/articles/380435a0>
129. Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. *Nat Med* [Internet]. 2003 Jun 1;9(6):653–60. Available from: <https://www.nature.com/articles/nm0603-653>

130. Li W-L, Fraser JL, Yu SP, Zhu J, Jiang Y-J, Wei L. The role of VEGF/VEGFR2 signaling in peripheral stimulation-induced cerebral neurovascular regeneration after ischemic stroke in mice. *Exp Brain Res* [Internet]. 2011 Oct 16;214(4):503–13. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00221-011-2849-y>
131. Jain RK, Duda DG, Willett CG, Sahani D V., Zhu AX, Loeffler JS, et al. Biomarkers of response and resistance to antiangiogenic therapy. *Nat Rev Clin Oncol* [Internet]. 2009 Jun;6(6):327–38. Available from: <http://www.nature.com/articles/nrclinonc.2009.63>
132. Hiratsuka S, Minowa O, Kuno J, Noda T, Shibuya M. Flt-1 lacking the tyrosine kinase domain is sufficient for normal development and angiogenesis in mice. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 1998 Aug 4;95(16):9349–54. Available from: <https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.95.16.9349>
133. Kondo K, Hiratsuka S, Subbalakshmi E, Matsushime H, Shibuya M. Genomic organization of the *flt-1* gene encoding for Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Receptor-1 suggests an intimate evolutionary relationship between the 7-Ig and the 5-Ig tyrosine kinase receptors. *Gene* [Internet]. 1998 Feb;208(2):297–305. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378111998000067>
134. Bartoli M, Gu X, Tsai NT, Venema RC, Brooks SE, Marrero MB, et al. Vascular Endothelial Growth Factor Activates STAT Proteins in Aortic Endothelial Cells. *J Biol Chem* [Internet]. 2000 Oct;275(43):33189–92. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021925820889947>
135. Niu G, Wright KL, Huang M, Song L, Haura E, Turkson J, et al. Constitutive Stat3 activity up-regulates VEGF expression and tumor angiogenesis. *Oncogene* [Internet]. 2002 Mar 22;21(13):2000–8. Available from: <http://www.nature.com/articles/1205260>
136. Terman BI, Carrion ME, Kovacs E, Rasmussen BA, Eddy RL, Shows TB. Identification of a new endothelial cell growth factor receptor tyrosine kinase. *Oncogene* [Internet]. 1991 Sep;6(9):1677–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1656371>

137. Shibuya M. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Its Receptor (VEGFR) Signaling in Angiogenesis: A Crucial Target for Anti- and Pro-Angiogenic Therapies. *Genes Cancer* [Internet]. 2011 Dec 1;2(12):1097–105. Available from: <http://gan.sagepub.com/lookup/doi/10.1177/1947601911423031>
138. 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* [Internet]. 2018 Jan;97:1086–95. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S075333221734180X>
139. Yu JSL, Cui W. Proliferation, survival and metabolism: the role of PI3K/AKT/mTOR signalling in pluripotency and cell fate determination. *Development* [Internet]. 2016 Sep 1;143(17):3050–60. Available from: <https://journals.biologists.com/dev/article/143/17/3050/47589/Proliferation-survival-and-metabolism-the-role-of>
140. Wang M, Yuan F, Bai H, Zhang J, Wu H, Zheng K, et al. SHMT2 Promotes Liver Regeneration Through Glycine-activated Akt/mTOR Pathway. *Transplantation* [Internet]. 2019 Jul;103(7):e188–97. Available from: <https://journals.lww.com/00007890-201907000-00018>