

Mtra. María Elena Contreras Garfias  
 Directora de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
**PRESENTE**



Por este medio le informo del término del Servicio Social, cuyos datos son los siguientes :

Fecha de Recepción	Día	Mes	Año	Fecha de Aprobación	Día	Mes	Año
--------------------	-----	-----	-----	---------------------	-----	-----	-----

### Datos del Alumno

Nombre : <b>Martha Zuliet Romero Cruz</b>	
Matrícula : <b>2163066039</b>	Licenciatura : <b>Química Farmacéutica Biológica</b>
Domicilio : <b>Prolongación Zaragoza número provisional 130, San Antonio Tecomitl, Barrio Tenantitla, Alcaldía Milpa Alta, C.P. 12100</b>	
Teléfono : <b>5581915601</b>	Celular : <b>5527404282</b>
Correo Electrónico : <b>zulietr@gmail.com</b>	CURP : <b>ROCM971119MDFMRR05</b>

### Datos del Proyecto

Nombre del Proyecto : <b>Investigación documental del método fluorométrico para la determinación de glutatión en cerebros de ratas expuestas a un modelo de epilepsia inducida con ácido kaínico</b>							
Lugar donde se realizó el Servicio Social : <b>Laboratorio de neurofarmacología molecular</b>							
Dependencia : <b>Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco</b>							
Entidad Federativa : <b>Distrito Federal</b>							
Municipio : <b>Coyoacan</b>	Localidad : <b>Calz. De Hueso 1100, Coapa, Villa Quietud</b>						
Fecha de Inicio	Día	Mes	Año	Fecha de Término	Día	Mes	Año
	<b>7</b>	<b>6</b>	<b>2021</b>		<b>7</b>	<b>12</b>	<b>2021</b>

### PARA SER LLENADO POR LOS ASESORES

Sector: **3.- Público**

Tipo: **2.- Interno**

Orientación: **6.- Educación y Comunicación**

### FIRMAS

Dra. Tomasa Verónica Báron Flores No. 26848

Asesor Interno  
 Nombre, firma y No. Económico

Martha Zuliet Romero Cruz

Alumno  
 Nombre, firma

Dr. Luis Camilo Ríos Castañeda No. 16190

Asesor Externo  
 Nombre, firma y No. Económico

M. en C. Alma E. Ibarra Cázares 32807

Vo. Bo. de la Comisión  
 Nombre y firma de la persona que autoriza



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

CDMX a 07 de diciembre 2021

**Dr. Juan Esteban Barranco Florido**  
**Jefe del Departamento de Sistemas Biológicos**

**P R E S E N T E**

Por medio de la presente me permito comunicar a usted que la alumna: **Romero Cruz Martha Zuliet** con matrícula **2163066039** concluyó el proyecto de servicio social: **“Investigación documental del método fluorométrico para la determinación de glutatión en cerebros de ratas expuestas a un modelo de epilepsia inducida con ácido kaínico.”**, el cual fue realizado en Laboratorio de neurofarmacología molecular., del 07 de junio de 2021 al 07 de diciembre de 2021, bajo mi asesoría. Cubriendo un total de 480 horas.

Agradeciendo su atención a la presente, queda de usted.

ATENTAMENTE.

---

Dra. Tomasa Verónica Barón Flores  
No. 26848



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

CDMX a 07 de diciembre 2021

**Dr. Juan Esteban Barranco Florido**  
**Jefe del Departamento de Sistemas Biológicos**

**P R E S E N T E**

Por medio de la presente me permito comunicar a usted que la alumna: **Romero Cruz Martha Zuliet** con matrícula **2163066039** concluyó el proyecto de servicio social: **“Investigación documental del método fluorométrico para la determinación de glutatión en cerebros de ratas expuestas a un modelo de epilepsia inducida con ácido kaínico.”**, el cual fue realizado en Laboratorio de neurofarmacología molecular., del 07 de junio de 2021 al 07 de diciembre de 2021, bajo mi asesoría. Cubriendo un total de 480 horas.

Agradeciendo su atención a la presente, queda de usted.

ATENTAMENTE.

---

Dr. Luis Camilo Ríos Castañeda  
No. 16190



Casa abierta al tiempo

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**

**CDMX a 07 de diciembre 2021**

**Dr. Juan Esteban Barranco Florido**  
**Jefe del Departamento de Sistemas Biológicos**

**P R E S E N T E**

Por medio de este conducto, me dirijo a usted para informarle la terminación de mi servicio social el cual lleve a cabo de modo bibliográfico en el proyecto **“Investigación documental del Método fluorométrico para la determinación de glutatión en cerebros de ratas expuestas a un modelo de epilepsia inducida”**, con la Dra. Tomasa Verónica Barón Flores y el Dr. Luis Camilo Ríos Castañeda en el periodo del 07 de junio de 2021 al 07 de diciembre de 2021, cubriendo un total de 480 horas.

Sin más por el momento, aprovecho para mandarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE.

---

Martha Zulet Romero Cruz con matrícula 2163066039  
Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

c.c.p. Mtra. María Elena Contreras Garfias. Directora de la DCBS UAM-X



División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
Licenciatura: Química Farmacéutica biológica

### **Reporte de investigación final.**

#### **Tema de investigación:**

Investigación documental del método fluorométrico para la determinación de glutatión en cerebros de ratas expuestas a un modelo de epilepsia inducida por ácido kaínico.

#### **Proyecto genérico:**

Evaluación de productos relacionados con la salud.

#### **Etapa:**

Desarrollo de métodos y técnicas analíticas para el control físico, químico, biológico y/o microbiológico de productos relacionados con la salud

Alumna: Martha Zuliet Romero Cruz  
Matricula: 2163066039

Asesores:

Dra. Tomasa Verónica Barón Flores. No. 26848

Dr. Luis Camilo Ríos Castañeda. No. 16190

Fecha de inicio: 07/Junio/2021  
Fecha de término: 07/Diciembre/2021

## Índice

1.	Introducción .....	1
2.	Antecedentes .....	1
2.1.	Epilepsia.....	1
2.2.	Tipos de epilepsia.....	2
2.3.	Modelos de epilepsias inducidas .....	3
2.4.	Estrés oxidativo (EO).....	6
2.5.	Antioxidantes .....	7
2.5.1.	Antioxidantes enzimáticos .....	7
2.5.2.	Antioxidante no enzimático.....	8
2.6.	Glutación en el cerebro .....	9
2.7.	Método fluorométrico .....	10
2.8.	Reacción de OPA con GSH y GSSG .....	13
2.9.	Extracción de tejido cerebral.....	14
3.	Objetivos .....	16
3.1.	Objetivo general .....	16
3.2.	Objetivos específicos.....	16
4.	Metodología .....	16
5.	Actividades realizadas.....	17
6.	Discusión.....	17
7.	Conclusión.....	18
8.	Bibliografía .....	18

## Índice de figuras.

Figura 1.	Clasificación de los modelos de epilepsia según su tipo de crisis.....	5
Figura 2.	Clasificación de los modelos de epilepsia según su tipo de crisis. ....	5
Figura 3.	Estructura de glutación (GSH) .....	8
Figura 4.	Reacción de glutación reducido y glutación oxidado. ....	9
Figura 5.	Síntesis de glutación en el cerebro.....	10
Figura 6.	Diagrama del procedimiento para GSH y GSSH con OPA. ....	13
Figura 7.	Reacción de OPA con GSH. ....	14
Figura 8.	Regiones del cerebro para disección .....	15
Figura 9.	Secciones del cerebro diseccionadas .....	16

## **1. Introducción**

La epilepsia es uno de los trastornos cerebrales más graves, siendo la afección neurológica más común que afecta a personas de todas las edades en todo el mundo, con picos de incidencia en niños y en mayores de 60 años<sup>1,2</sup>. Se caracteriza por convulsiones espontáneas recurrentes debido a un desequilibrio entre la excitabilidad incontrolada, conocida también como alteración metabólica y redox, este último, da lugar al estrés oxidativo. El estrés oxidativo puede causar daño a macromoléculas celulares imperativas, incluidas proteínas, lípidos y ADN por lo que, el cerebro es particularmente vulnerable al daño oxidante debido a la abundancia de mitocondrias, la alta demanda de oxígeno, la escasa capacidad de reparación y la presencia de altas concentraciones de ácidos grasos poliinsaturados.<sup>3</sup>

Debido a la alteración redox causado por la epilepsia, el glutatión reducido (GSH) es uno de los antioxidantes encargado de mantener la homeostasis de los estados redox en las células, además de desempeñar un papel importante en el mantenimiento de las funciones fisiológicas de todas las células *in vivo*. Las concentraciones sanguíneas de glutatión reflejan el estado del glutatión en otros tejidos menos accesibles, las mediciones del glutatión reducido (GSH) y el glutatión disulfuro (GSSG) en sangre se consideran esenciales como índice del estado del GSH en todo el cuerpo y es un indicador útil del estado de estrés oxidativo.<sup>4,5</sup>

En el presente trabajo se revisará y analizará de manera bibliográfica el uso del método fluorométrico para la determinación de glutatión en cerebros de ratas con epilepsia inducida por ácido kaínico para evaluar el estrés oxidativo.

## **2. Antecedentes**

### **2.1. Epilepsia**

La epilepsia es una patología neurológica que se manifiesta clínicamente por crisis de repetición (síntomas y/o signos neurológicos positivos), específicamente no se refiere a una enfermedad sino a un conjunto heterogéneo de trastornos neurológicos que representan una reacción anormal del cerebro a ciertos tipos de agresión.<sup>6</sup> Se caracteriza por convulsiones recurrentes, que son episodios breves de movimiento involuntario que pueden involucrar una parte del cuerpo (parcial) o todo el cuerpo (generalizado) y en ocasiones se acompañan de pérdida de conciencia y control de la función intestinal.<sup>2</sup>

En el año de 2017, la ILAE redefinió la epilepsia con el objetivo de mejorar la intuitividad, transparencia y versatilidad en las clasificaciones. La ILAE define la epilepsia como una “enfermedad” y no como un trastorno, se desarrolla cuando alguien tiene un ataque epiléptico y su cerebro “demuestra una tendencia patológica y duradera a tener convulsiones recurrentes” por lo que, se define como “ataque epiléptico” a la aparición transitoria de signos y/o síntomas debido a una actividad neuronal excesiva o asincrónica en el cerebro. Dentro de la actualización de la definición de epilepsia, esta se puede clasificar utilizando un marco de clasificación de los siguientes niveles: <sup>7,8</sup>

- Tipo de convulsión:
  - *Inicio generalizado*  
Se origina en algún punto dentro de redes distribuidas bilateralmente y que se involucran rápidamente. Estas redes bilaterales pueden incluir estructuras corticales y subcorticales, pero no necesariamente incluyen toda la corteza. Aunque los inicios individuales de las convulsiones pueden parecer localizados, la ubicación y la lateralización no son consistentes de una convulsión a otra.
  - *Inicio focal*  
Son originadas dentro de redes limitadas a un hemisferio. Pueden estar localizados de forma discreta o distribuidos de forma más amplia. Las convulsiones focales pueden originarse en estructuras subcorticales. Para cada tipo de convulsión, el inicio ictal es consistente de una convulsión a otra, con patrones de propagación preferenciales que pueden involucrar el hemisferio ipsilateral y/o contralateral.
  - *Inicio desconocido.*  
Las convulsiones se clasifican en términos generales como de inicio generalizado o focal, estos términos se pueden usar cuando sea apropiado, pero hay convulsiones que no se pueden categorizar de esta manera y se clasifican como de inicio desconocido. Las convulsiones de inicio desconocido pueden clasificarse además como de tipo motor o no motor
- Tipo de epilepsia: *Ver punto 1.2*
- Síndrome de epilepsia: Se refiere a un conjunto de características (tipo de convulsión, factores desencadenantes y edad) que ocurren en conjunto

Una manera de optimizar estos niveles es con la ayuda de las imágenes, el electroencefalograma (EEG) y otras investigaciones, cuando estén disponibles y siempre que sea posible, debe establecerse un diagnóstico en los tres niveles. La etiología de la epilepsia debe considerarse desde el principio y en cada paso de la vía diagnóstica. Además, conocer la etiología puede informar una clasificación optimizada y tiene importantes implicaciones de tratamiento para el paciente. <sup>8</sup>

## 2.2. Tipos de epilepsia. <sup>8</sup>

- *Generalizada*
  - Suelen tener convulsiones de tipo generalizadas con hallazgos por medio de patrones de EEG interictales y/o ictales típicos que acompañan la actividad de onda de pico generalizada, que se entiende que tiene una etiología genética. Sin embargo, esto no siempre significa que estas epilepsias se hereden o se puedan transmitir a la descendencia, ya que la etiología genética puede ser una nueva mutación espontánea o la herencia puede ser compleja. Por lo tanto, el término epilepsia generalizada idiopática se usa como sinónimo de epilepsia generalizada genética.



- *Focal*
  - En este tipo tienen tipos de convulsiones focales y pueden tener hallazgos EEG típicos interictales o ictales que acompañan a los tipos de convulsiones focales (como ondas agudas focales o enlentecimiento interictal focal). Las imágenes que muestran una anomalía cerebral estructural focal pueden ser de apoyo, aunque los pacientes con etiologías genéticas e imágenes normales también pueden tener epilepsia focal.
  - Las epilepsias focales pueden ser unifocales, multifocales o hemisféricas.
- *Combinada.*
  - Pueden tener tipos de convulsiones tanto generalizadas como focales, con hallazgos en el EEG interictal y/o ictal que acompañan a ambos tipos de convulsiones.
  - Los pacientes con síndrome de Dravet y síndrome de Lennox Gastaut pueden tener epilepsia generalizada y focal.
- *Desconocido*
  - El término "desconocido" se utiliza para indicar dónde se entiende que el paciente tiene epilepsia, pero no es posible indicar si es focal, generalizada o combinada. Esto puede ocurrir debido a información insuficiente para clasificar la epilepsia

Actualmente, los fármacos disponibles son ineficaces para controlar las convulsiones en aproximadamente un tercio de los pacientes con epilepsia. Además, estos fármacos están asociados con efectos adversos y ninguno de ellos es capaz para prevenir el desarrollo de la epilepsia después de una agresión o lesión. Para desarrollar una estrategia terapéutica eficaz que pueda interferir con el proceso de desarrollo de la epilepsia (epileptogénesis), es fundamental estudiar los cambios que ocurren en el cerebro después de una lesión y antes de que se desarrolle la epilepsia. Sin embargo, no es posible determinar estos cambios en el tejido humano por razones éticas, por lo que, a través de los años los modelos experimentales de epilepsias han contribuido enormemente a mejorar nuestra comprensión del mecanismo de la epileptogénesis, así como de la generación de convulsiones.<sup>9</sup>

### 2.3. Modelos de epilepsias inducidas

Hay muchos modelos que replican al menos algunas de las características de la epilepsia humana. Cada modelo tiene sus ventajas y desventajas, y el investigador debe ser consciente de esto antes de seleccionar un modelo específico para sus estudios. La disponibilidad de un buen modelo animal es clave para el desarrollo de un tratamiento eficaz. La manifestación de los síntomas convulsivos de inicio focal está determinada por el área de donde se origina la convulsión y esta se puede subdividir en 3 categorías:<sup>9</sup>

- *Convulsiones mesocorticales.*
  - Se manifiestan de manera diferente, dependiendo sobre la ubicación exacta de su origen y el patrón de su propagación.  
Por ejemplo, la convulsión que se origina en la corteza visual sensorial primaria puede involucrar alucinaciones como luces parpadeantes.

- *Convulsiones del lóbulo temporal.*
  - La mayoría de las convulsiones del lóbulo temporal se originan en las estructuras mesiales, principalmente del hipocampo.
- *Multifactorial.*
  - Las convulsiones pueden originarse simultáneamente a partir de dos focos independientes como el neocórtex y el lóbulo temporal mesial.

Por ejemplo, en pacientes que sufren de epilepsia postraumática, se ha demostrado que las convulsiones se originan tanto en el lóbulo temporal mesial como en el neocórtex.

Se considera “modelo de animal” válido aquel que es capaz de reproducir total o parcialmente una serie de características clínicas, que luego se puedan trasladar al humano o a otras especies animales y se han utilizado para valorar la eficacia y toxicidad de los nuevos tratamientos antes de someterlos a ensayos clínicos, de manera general existen los siguientes tipos de modelos: <sup>10</sup>

- *Modelo de epilepsia aguda.*
  - Se inducen por la administración de fármacos convulsivos o por estimulación eléctrica.
- *Modelo de epilepsia crónica.*
  - Requieren de mayor cuidado, trabajo y coste económico, pero se ha comprobado que reproducen mejor la fisiopatología de la epilepsia en humanos.

Ambos tipos de modelos reproducen crisis parciales y generalizadas; sin embargo, dado que la epilepsia se caracteriza por la aparición de crisis recurrentes a lo largo del tiempo, sólo los modelos que reproducen esa condición se consideran modelos de epilepsia. Por lo que, se pueden clasificar los modelos de epilepsia según el tipo de crisis (Figura 1 y Figura 2): <sup>10</sup>

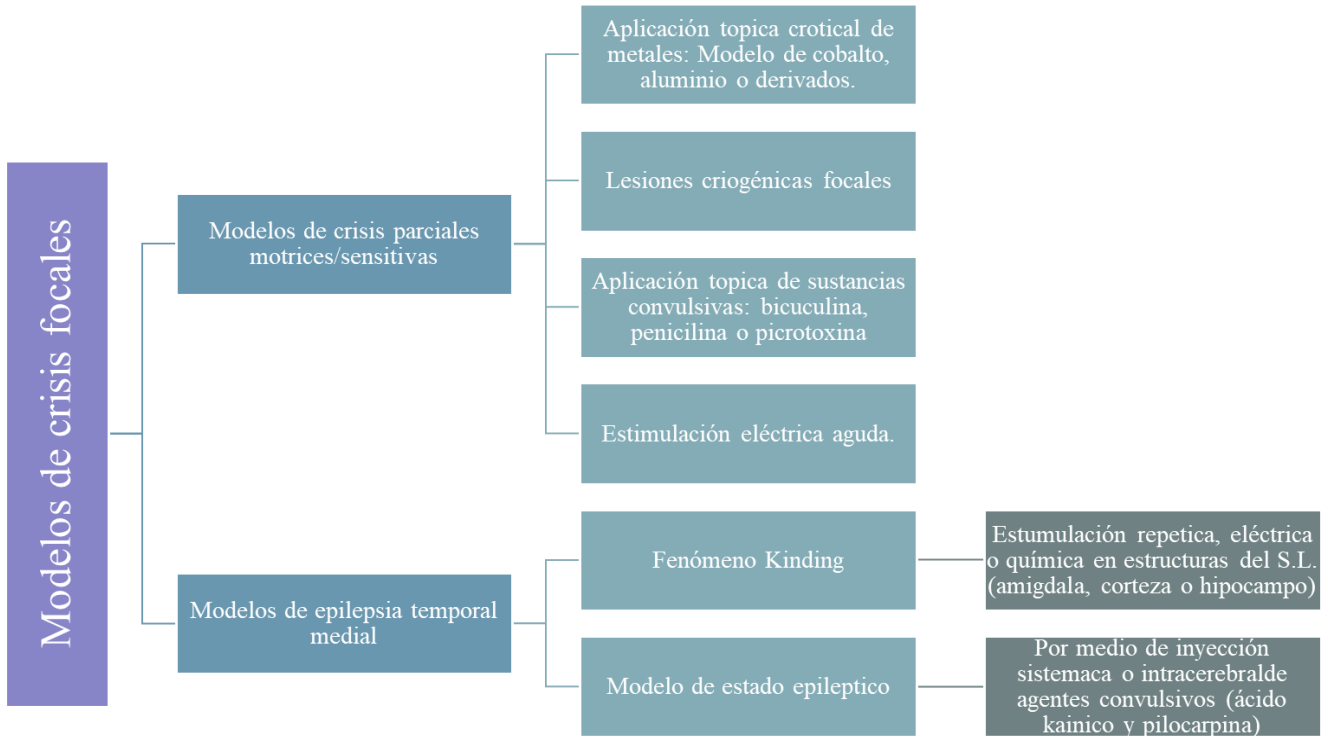


Figura 1. Clasificación de los modelos de epilepsia según su tipo de crisis<sup>10</sup>  
 S.L.: Sistema Límbico

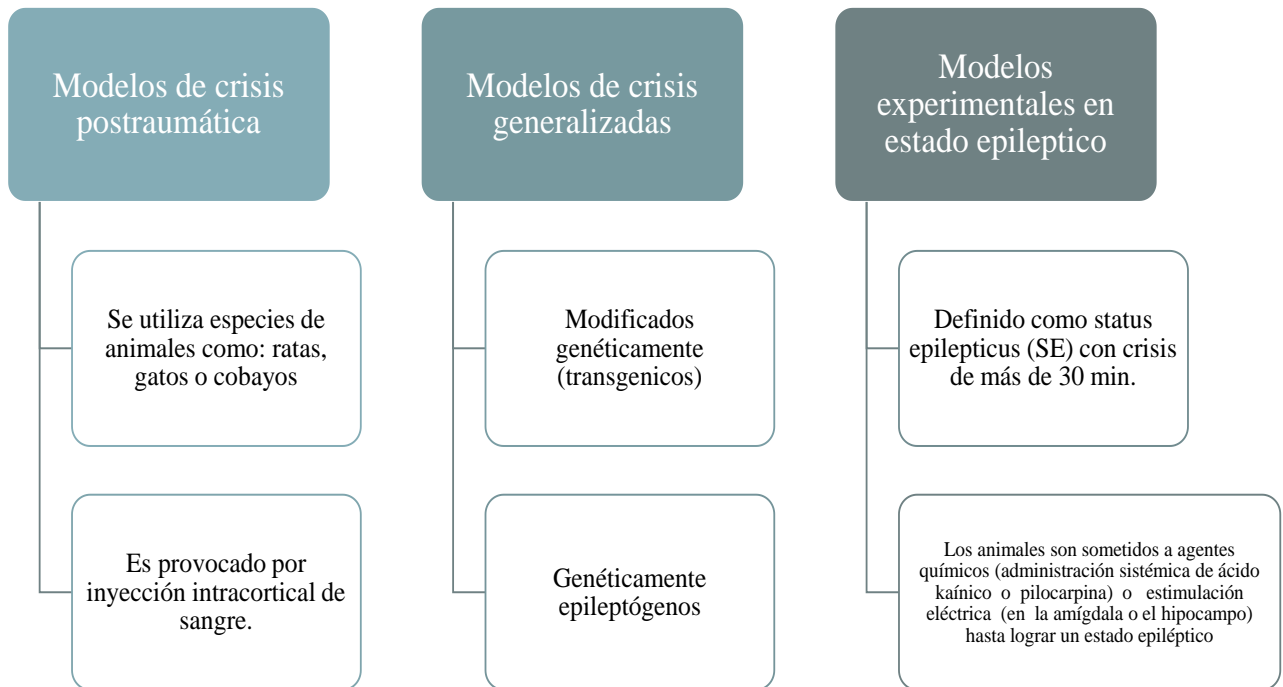


Figura 2. Clasificación de los modelos de epilepsia según su tipo de crisis. <sup>10</sup>

Estos diversos modelos de epilepsia inducida tienen que ser considerados desde diferentes puntos de vista como: tiempo, equipo, ventaja y/o desventajas, objetivo del proyecto hasta la metodología de este para que el investigador pueda definir qué modelo utilizar. Sin embargo, y en específico, los modelos químicos, son considerados unos de los modelos con mayor viabilidad, estos consisten en la inducción de actividad epiléptica (convulsiva o no) como consecuencia a la administración de sustancias químicas excitadoras (principalmente análogos glutamatérgicos) o agentes que disminuyen o bloquean la neurotransmisión inhibitoria (principalmente antagonistas GABAérgicos o glicinérgicos).<sup>11</sup>

La administración de ácido kaínico (AK) y la pilocarpina (un agonista de los receptores muscarínicos colinérgicos) representan modelos de *status epilepticus*, ha contribuido en gran medida a la comprensión de los mecanismos moleculares, celulares y farmacológicos subyacentes a la epileptogénesis.<sup>12</sup> el AK es un análogo del ácido glutámico que al ser administrado de manera sistémica o intracerebral induce crisis límbicas con daño neuronal localizado subsecuente primariamente en el sistema límbico (principalmente las regiones CA1 y CA3 del hipocampo, y gliosis, semejante a los cambios neuropatológicos observados en el sistema límbico de pacientes con convulsiones del lóbulo temporal.<sup>11,13</sup>

Una inyección con dosis alta (10 a 18 mg / kg) de ácido kaínico induce convulsiones conductuales estereotipadas que comienzan con la mirada fija, seguidos de asentir con la cabeza y sacudidas de “perro mojado”. Aproximadamente 1 h después de la inyección de ácido kaínico, las ratas muestran convulsiones motoras límbicas recurrentes, como masticación, clon facial, temblor de las extremidades anteriores, levantamiento y caída antes de entrar en estado epiléptico que puede durar horas.<sup>9</sup>

Debido a la excitabilidad incontrolada en el cerebro, se genera un desequilibrio en la tasa metabólica donde el sistema antioxidante se ve afectado generando de más algunas especies reactivas de oxígeno (ERO) ocasionando un estrés oxidativo.<sup>1</sup>

#### 2.4.Estrés oxidativo (EO)

El estrés oxidativo (EO) es considerado como un desbalance entre especies reactivas de oxígeno (ERO) y la acción de los antioxidantes; los ERO son conocidos también como radicales libres y se definen como moléculas o fragmentos moleculares con uno o dos electrones desapareados como anión superóxido ( $O_2^-$ ), los radicales hidroxilos ( $\bullet OH$ ) y el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ). En cambio, los antioxidantes son moléculas que cuando están presentes en concentraciones más bajas respecto a las de un sustrato oxidable, retrasan o inhiben la oxidación del sustrato, estos antioxidantes se pueden clasificar de dos formas: antioxidantes enzimáticos (catalasa, superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa) y los no enzimáticos (vitaminas, flavonoides, carotenoides y metabolitos de bajo peso molecular como el glutatión (GSH)).<sup>14</sup>

El estrés oxidativo puede dañar a lípidos, proteínas y los ácidos nucleicos, alterando las funciones de estas moléculas, por lo que, el tejido cerebral es objetivo del estrés oxidativo ya que contiene altas concentraciones de ácidos grasos poliinsaturados que son susceptibles a la peroxidación de lípidos, consume cantidades relativamente grandes de oxígeno para la producción de energía y tiene defensas antioxidantes más bajas en comparación con otros órganos<sup>1</sup>. Además de tener niveles relativamente bajos de antioxidantes específicamente de glutatión lo que lo hace más susceptible disminuir la concentración de este antioxidante y como consecuencia da lugar a enfermedades neurodegenerativas como Alzheimer y la enfermedad de Parkinson.<sup>3,15</sup>

## 2.5. Antioxidantes

Un antioxidante se refiere a un compuesto capaz de impedir o retardar la oxidación del sustrato, actuando a una concentración menor en comparación con la del sustrato protegido. Las funciones antioxidantes implican la reducción del estrés oxidativo, la protección del ADN contra las transformaciones malignas, así como otros parámetros de daño celular. Existen 2 tipos de antioxidantes:<sup>16</sup>

- Primarios: Son aquellos que rompen cadenas, retardando el inicio o interrumpiendo la propagación eliminando especies radicales, convirtiéndolas en más estables.
- Secundarios: Descomponen los peróxidos que producen especies no radicales, quelan los iones metálicos, inhiben la oxidación de enzimas o absorben la radiación UV.

A su vez están otro tipo de antioxidantes, los cuales son consideradas cuatro líneas de defensa según su función de su reactividad: antioxidantes preventivos, captadores de radicales, reparados de antioxidantes y antioxidantes que depende de los mecanismos de adaptación donde destaca la primera línea de defensa está compuesta por antioxidantes que previenen los procesos oxidativos, por suprimiendo la formación de especies radicales. Estos antioxidantes actúan muy rápidamente y neutralizan cualquier radical libre que puede inducir la producción de otros radicales o cualquier especie química que tenga la potencial de convertirse en un radical libre.<sup>17</sup>

### 2.5.1. Antioxidantes enzimáticos

Está basado en un complejo enzimático de defensa que puede incluir el superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa, a la tiorredoxina reductasa y al glutatión reductasa. La superóxido dismutasa permite la dismutación del ión superóxido en peróxido de hidrógeno y cuya acumulación se evita por el sistema de catalasa (CAT)/glutatión peroxidasa (GSH-PX), transformándolo en oxígeno no molecular, agua y glutatión oxidado dependen de otros nutrientes esenciales; por ejemplo, las expresiones del glutatión peroxidasa y la tiorredoxina reductasa dependen de que se cuente con cantidades adecuadas de selenio, las expresiones del superóxido dismutasa dependen de un aporte adecuado de cobre y zinc; la actividad del glutatión reductasa depende de un consumo suficiente de riboflavina. Cuando estos sistemas enzimáticos fracasan o se sobrepasan, se produce una sobre producción de iones superóxido y de peróxido de hidrógeno, que no es totalmente de toxicado dando lugar

al radical hidroxilo (-OH) que es altamente tóxico.<sup>18</sup>

Tanto los antioxidantes enzimáticos como los no enzimáticos pueden contrarrestar la acción dañina de ROS. Para lograr la máxima protección, están estratégicamente compartimentados en el citoplasma y orgánulos (por ejemplo, mitocondrias).<sup>17</sup>

### 2.5.2. Antioxidante no enzimático (Glutati6n)

A partir de funciones protectoras, se considera que el GSH juega un papel importante no solo en condiciones fisiol6gicas sino tambi6n en condiciones patol6gicas inducidas por estr6s oxidativo para mantener la homeostasis de las funciones celulares.<sup>14,15</sup>

El glutati6n (GSH) es un tiol no proteico constituida de 3 amino6cidos (glicina, ciste6na y glutamato) (Figura 3) desempeña un papel importante en las c6lulas vivas como el mantenimiento del sistema antioxidante intracelular, el equilibrio redox, el transporte/almacenamiento de ciste6na, la se sealizaci6n celular, la regulaci6n de algunas actividades enzim6ticas, las expresiones g6nicas y la diferenciaci6n/proliferaci6n celular.<sup>4</sup>

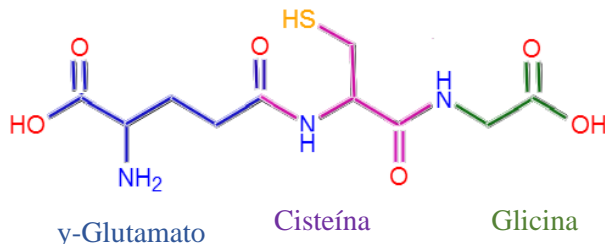


Figura 3. Estructura de glutati6n (GSH)

El GSH actúa como donante de electrones a trav6s de la reducci6n del grupo tiol en el resto de ciste6na y la formaci6n de la forma disulfuro oxidada (GSSG) encontr6ndose de manera general en esta forma (GSSG, es la uni6n de dos grupos GSH por puentes de disulfuro) de manera que es f6cilmente revertir a la forma reducida (GSH) por la enzima glutati6n reductasa usando nicotinamida adenina dinucle6tido fosfato hidr6geno (NADPH) como cofactor, de esta manera se encuentra presente en diferentes tejidos (Figura 4). Por tanto, la relaci6n molar de GSH / GSSG es un indicador importante del estr6s oxidativo celular.<sup>19,20</sup>

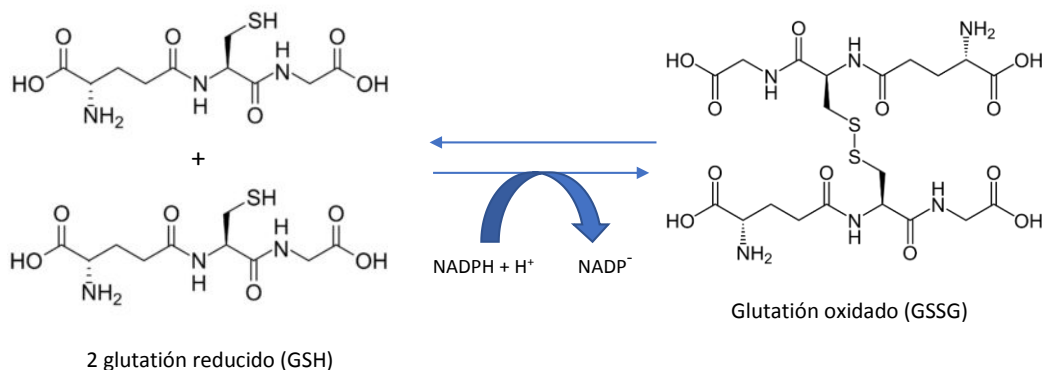


Figura 4. Reacción de glutatión reducido y glutatión oxidado.

## 2.6. Glutatión en el cerebro

El GSH es abundante en el hígado seguido del riñón cuya concentración promedio es de 12 mM, mientras que en el cerebro se encuentra a niveles más bajos (alrededor de 1 a 3 mM), donde se sitúa el sistema regulador de la síntesis de GSH independiente de la de los tejidos periféricos. En el Sistema Nervioso Central (SNC) tiene lugar una interacción entre los astrocitos y las neuronas durante la síntesis de GSH que es de gran importancia para proteger a las neuronas del ataque de las ERO.<sup>23</sup> Los astrocitos tienen mayor concentración de GSH y mayor capacidad de secretar GSH al espacio extracelular que las neuronas. Esta secreción sirve para suplir de GSH a otras células del cerebro, incluyen las neuronas.

Se sintetiza *in vivo* por acción de dos enzimas:  $\gamma$ -Glutamyl-cisteína sintetasa (GCS) para formar un dipéptido ( $\gamma$ -Glutamyl-cisteína) y finalmente se combina con glicina, reacción catalizada por glutatión sintetasa (GSH sintetasa), además que utilizan adenina-3-fosfato (ATP) para la formación de glutatión (GSH) (Figura 5). Esta formación de GSH es sintetizado exclusivamente en el citosol, sin embargo, esta distribuido en el retículo endoplasmático, núcleo y mitocondria. El nivel de GSH es regulado fundamentalmente por el control de su síntesis y exportación de las células y puede afectarse por agentes o condiciones que alteren el estado redox o por ruptura de la distribución entre los organelos. El GSSG obtenido durante el curso de la reacción de la GPx es reciclado a GSH por la enzima, de manera que la relación GSH/GSSG sirve como indicador del ambiente redox celular. En cada sitio el GSH/GSSG tiene función diferente, por ejemplo:

- *Núcleo.*
  - El GSH mantiene su forma reducida para que los sulfidrilos de las proteínas reparen el ADN
- *Retículo endoplasmático.*
  - Se encuentra de modo predominante la forma GSSG para la formación de puentes de disulfuro en el plegamiento de las proteínas durante su síntesis.
- *Mitocondria:*

- Predomina el GSH, de manera similar a la que se encuentra en el citosol, donde aporta la mayor parte ya que este organelo tiene exposición directa con los ERO

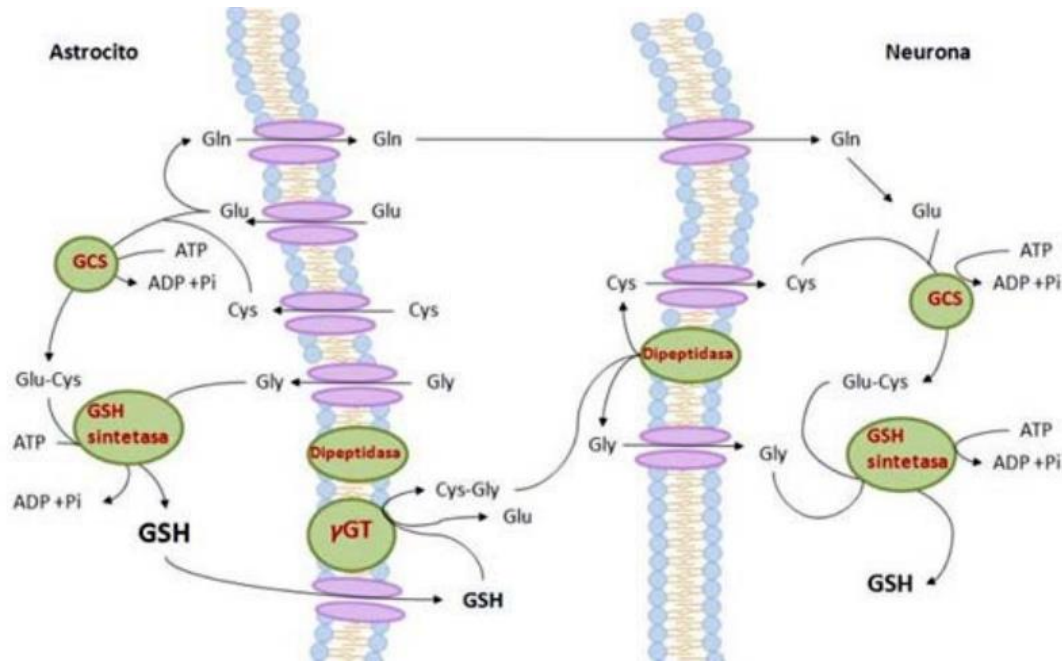


Figura 5. Síntesis de glutatión en el cerebro.

Se considera que, de manera general, el GSH tiene función en el cerebro como neurohormona, debido a que se ha encontrado en el espacio extracelular uniéndose a receptores extracelulares generando señalizaciones en astrocitos además de ser destoxicante, por lo que, la baja proporción de GSH/GSSG es considerado un biomarcador importante en una serie de trastornos humanos como cataratas, cáncer, Parkinson, diabetes, insuficiencia renal, neumonía, enfermedad de Alzheimer, toxicidad por plomo, fibrosis quística, fibroblastos distróficos de la piel, trastornos neurodegenerativos, hígado e infecciones por virus de inmunodeficiencia humana.<sup>14,20, 21</sup>

## 2.7.Método fluorométrico

Dentro de la espectrometría molecular por luminiscencia hay 3 tipos de métodos ópticos: fluorescencia, fosforescencia y quimioluminiscencia. Sin embargo, en la actualidad, el número de métodos fluorométricos es mayor que la cantidad de aplicaciones de los otros métodos, ya que, la fluorescencia tiene lugar en sistemas gaseosos, líquidos y sólidos, tanto sencillos como complejos además las transiciones energéticas electrónicas que causan la fluorescencia no cambian el espín del electrón. Por esta razón, los estados excitados en los que hay fluorescencia presentan vida corta ( $<10^{-5}$  s).<sup>22</sup>



La fluorescencia es un fenómeno que ocurre cuando una sustancia absorbe luz a una determinada longitud de onda y emite luz a otra longitud de onda. Es producida cuando un electrón, que ha sido excitado a un estado de energía más altos y más inestable, se relaja a su estado de tierra y emite un fotón de luz. La luz que se encarga de la excitación, o mover el electrón a un estado de mayor energía, es de menor longitud de onda y mayor energía que la emisión de fluorescencia, que tiene una longitud de onda más larga, menor energía y diverso color.<sup>23</sup>

Sin embargo, las moléculas poseen factores que van tanto de la estructura molecular como el entorno químico pueden determinar la intensidad de emisión cuando tiene lugar la luminiscencia, por ejemplo:

- Rendimiento cuántico: Es la relación entre la cantidad de moléculas que manifiestan luminiscencia y el número total de moléculas excitadas. Si una molécula es muy fluorescente su rendimiento cuántico se acerca la unidad.
- Transiciones: la fluorescencia más común surge a partir de una transición desde el nivel vibracional más bajo del primer estado electrónico excitado a uno de los niveles vibracionales del estado electrónico fundamental. Por lo que, la radiación se produce por una transición  $\pi \rightarrow n$  o  $\pi^* \rightarrow \pi$  dependiendo de cuál de ellas es la menos energética.

La fluorescencia se relaciona más con el estado  $\pi^*, \pi$  porque tales estados excitados manifiestan tiempos de vida relativamente cortos y porque es menos probable que tengan lugar los procesos de desactivación que compiten con la fluorescencia.<sup>22,23</sup>

En 1950 se consideró este método como un detector natural para productos farmacéuticos debido a sus selectividad y sensibilidad mejoradas en comparación con el método con absorción UV-vis. Dentro de sus aplicaciones incluye la determinación por hidrólisis en fármacos como diazepam, nitrazepam y oxazepam, oxidación en amoxicilina con ácido clavulánico y el uso de agentes fluorescentes como o-ftalaldehído (OPA) cuando hay en presencia de aminas primarias y secundarias, sin embargo, dado que las proteínas varían en sus aminoácidos la intensidad de la fluorescencia suele variar.<sup>24</sup>

La adición de agentes fluoroénicos tales como cloruro de dansilo, ninhidrina, fluorescamina y o-ftalaldehído (OPA) ha permitido el mejoramiento en el método fluorométrico, por ejemplo, la fluorescamina reacciona muy rápidamente a pH alcalino con grupos amino primarios que dan lugar a derivados fluorescentes y se puede utilizar en soluciones acuosas o disolventes orgánicos.<sup>24,25</sup>

En el caso de OPA este un reactivo muy versátil, incluso aunque no reacciona con prolina o hidroxiprolina, y da una fluorescencia muy débil con cisteína. Reacciona rápidamente con grupos amino primarios a pH 9-11 en presencia de un tiol.<sup>25</sup>

A pesar de métodos previamente propuestos para la determinación de GSH por HPLC, colorimétricos y fluorométricos (sin agentes fluorométricos).<sup>26</sup> Se ha determinado que el

método fluorométrico con OPA es preferido por su alta especificidad, sensibilidad y que a comparación del método de HPLC es más económico.<sup>27,28</sup> Por lo que, a partir del descubrimiento donde *o*-ftalaldehído con histamina produjo una reacción altamente fluorescente cuyo producto pudo usarse para el análisis de cantidades submicrogramos de histamina en tejidos biológicos, el OPA ha sido utilizado con la misma finalidad.<sup>29,30</sup>

Por lo que, algunos autores, lograron establecer un procedimiento para determinar glutatión mediante un método fluorométrico en el cual utilizan como reactivo el *o*-ftalaldehído (OPA) para el ensayo fluorescente cuyas muestras fueron preparadas de la misma manera para determinar GSH y GSSG (figura 6). Al estar presente la forma reducida (GSH) y la forma oxidada (GSSG), algunos métodos están basados en la diferencia de ambas formas por reacciones enzimáticas, químicas o electrolíticas, por lo que las reacciones pueden llegar a causar interferencias en la medición. El GSH está presente principalmente en tejidos biológicos, por el contrario, el GSSH se encuentra en menor concentración, por consiguiente, cualquier conversión no intencionada de glutatión reducido a oxidado puede causar un error mayor al estimar el GSSG presente dando lugar a la utilización en el presente procedimiento de N-etilmaleimida (NEM) para prevenir la oxidación de GSH a GSSG, siendo un inhibidor de glutatión reducido.<sup>19, 29</sup>

## Diagrama del procedimiento

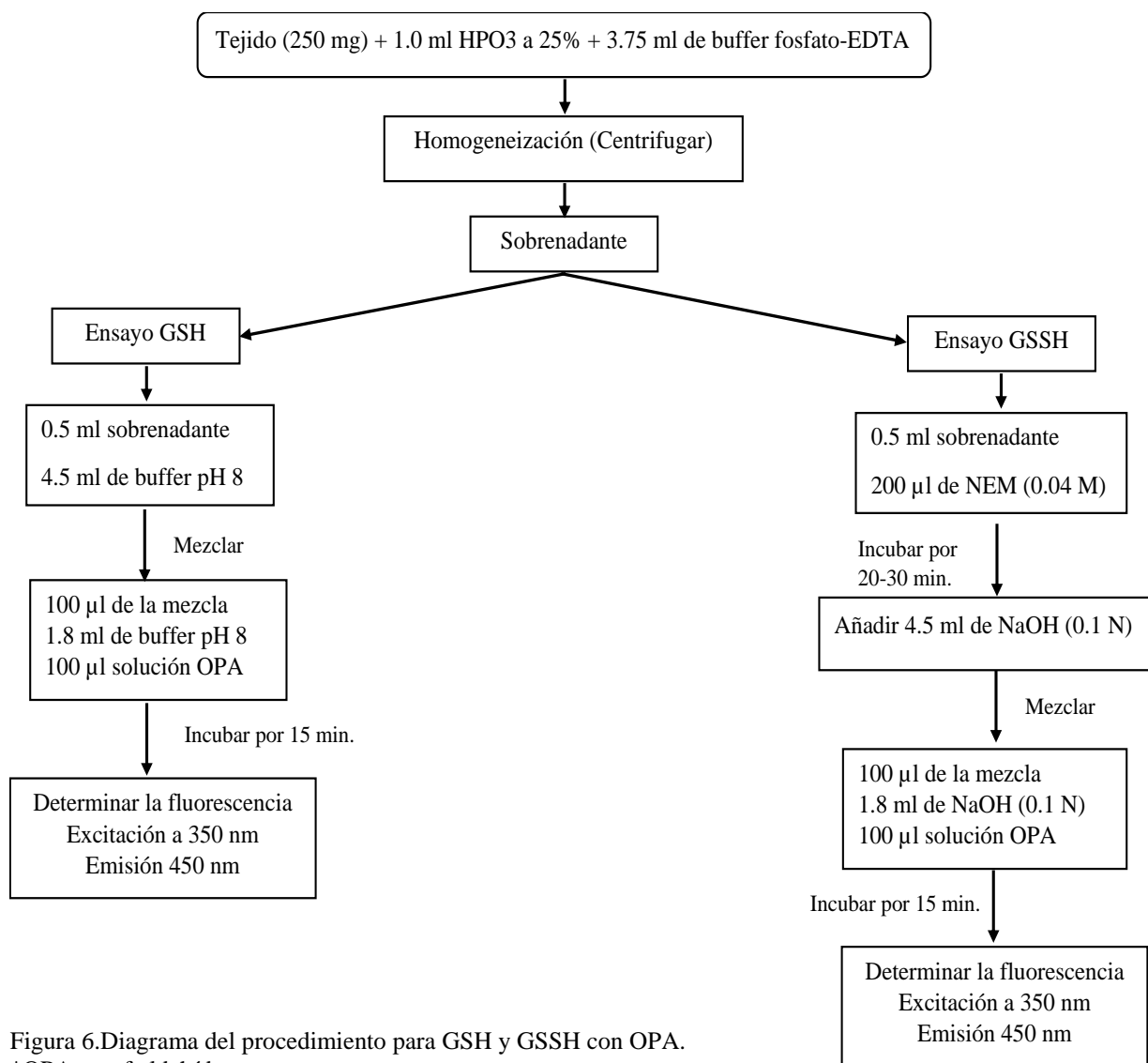


Figura 6. Diagrama del procedimiento para GSH y GSSH con OPA.

\*OPA: o-ftaldehído;

NEM: N-etilmaleimida (proviene la oxidación de GSH a GSSH)

### 2.8. Reacción de OPA con GSH y GSSG

El OPA forma un producto isoindol fluorescente sensible y estable con GSH, evitando la adición de otros tioles co-reaccionar para que ocurra la reacción (Figura 7), una vez unido el GSH a un grupo cromóforo es factible utilizar un espectrofotómetro de fluorescencia cuyas características de excitación (420 nm) y emisión (350 nm) fueron demostradas en su artículo donde también especifican que el GSH reacciona específicamente con OPA a pH 8.<sup>29,30</sup>

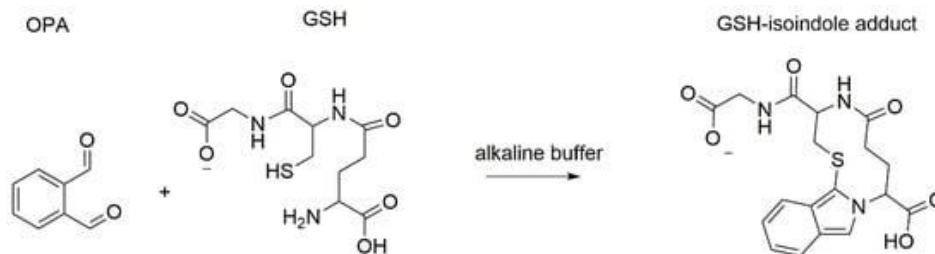


Figura 7. Reacción de OPA con GSH. <sup>22</sup>

Los autores fundamentan que esta reacción depende del pH final, ya que observaron que cuando disminuye el pH por debajo de 8 la intensidad de la fluorescencia se vio disminuida. Por el contrario, si el pH aumentaba por encima de 8 ocasionaba una conversión de GSH a GSSG. Por lo que, el sobrenadante requirió un buffer para mantener el pH de 8, estas observaciones fueron indicadores que la intensidad de la fluorescencia es proporcional a la concentración de GSH. Mientras que la reacción de GSSG con OPA, produce mayor intensidad fluorescente a pH 12 y que a diferencia del cambio de pH de GSH, la diferencia menor y mayor a pH 12 en GSSG no se vio afectada la determinación. <sup>19,29</sup>

## 2.9.Extracción de tejido cerebral

Se debe tener en cuenta la NOM-062-ZOO-1999 “Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorios” donde existe un comité interno cuya responsabilidad es asegurar el cuidado apropiado y humana de los animales, además de que la norma establece los métodos de identificación, alimento, instalaciones, técnicas experimentales, vías de administración y eutanasia que se debe llevar a cabo en un proyecto que incluya la experimentación con animales. <sup>31</sup>

Teniendo en cuenta la norma mencionada, el siguiente método es considerado viable para la disección del cerebro de las ratas y/o ratones. Las cuales deben ser aturridas y sacrificadas por decapitación al término de la inducción del modelo de epilepsia; los cerebros se deberán extraer con cuidado y mantenerse enfriados. <sup>32</sup>

La disección, será realizada en una placa de vidrio previamente enfriada con hielo colocando el cerebro en ella, donde se separará en siete regiones: (1) cerebelo, (2) médula oblongada o tronco encefálico, (3) hipotálamo, (4) mesencéfalo, (5) cuerpo estriado o cuerpo calloso (6) hipocampo y (7) corteza cerebral (Figura 8) <sup>32</sup>

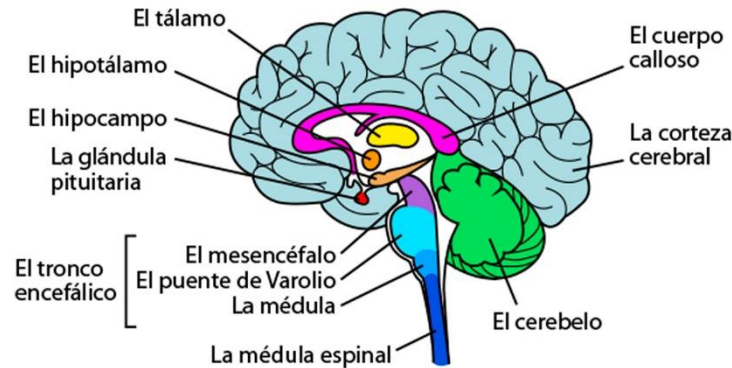


Figura 8. Regiones del cerebro para disección

Cinco de estas regiones se describirán con mayor precisión, ya que incluyen más de una región distinta que serán consideradas para la extracción de tejido cerebral.

- Bulbo raquídeo.
  - Corresponde al bulbo raquídeo y la protuberancia
- Mesencéfalo
  - Corresponde a parte del bulbo raquídeo e incluye el tálamo y el subtálamo (estas últimas estructuras son parte del diencefalo)
- Estriado
  - Contiene el núcleo del putamen y el núcleo caudado (estriado) y el núcleo del globo pálido (es decir, los ganglios basales del telencefalo sin la amígdala).
- Corteza
  - Corresponde al telencefalo sin el "cuerpo estriado"; incluye la materia blanca y gris de la corteza cerebral.

La disección del cerebro la realizaron de la siguiente manera:

1. Separar el rombencéfalo (A) por una sección transversal del resto del cerebro (Figura 9, Sección 1) diseccionado en dos partes: el "cerebelo" y el "bulbo raquídeo".
2. Se realiza una sección transversal a nivel del "quiasma óptico" que delimita la parte anterior del hipotálamo y pasa a través de la comisura anterior (Figura 9, Sección 2). Esta sección separa el cerebro en dos partes (B y C):
  - B. Esta se divide en cinco fracciones: Primero se disecciona el "hipotálamo" tomando la comisura anterior como referencia horizontal y la línea entre el hipotálamo posterior y los cuerpos mamilares como límite caudal. El "estriado" se disecciona con las paredes externas de los ventrículos laterales como límites internos y el cuerpo calloso como límites externos.
  - C. Las partes frontales del cuerpo estriado, están en la porción C, se diseccionan por separado y se combinan con las partes posteriores de la porción B. El "mesencéfalo" se separa suavemente de la parte restante del cerebro. A continuación, se disecciona el "hipocampo". El resto de la parte B se combina con

el resto de la parte C para formar la "corteza". Para la nomenclatura y una descripción anatómica más completa <sup>32</sup>

### 3. Objetivos

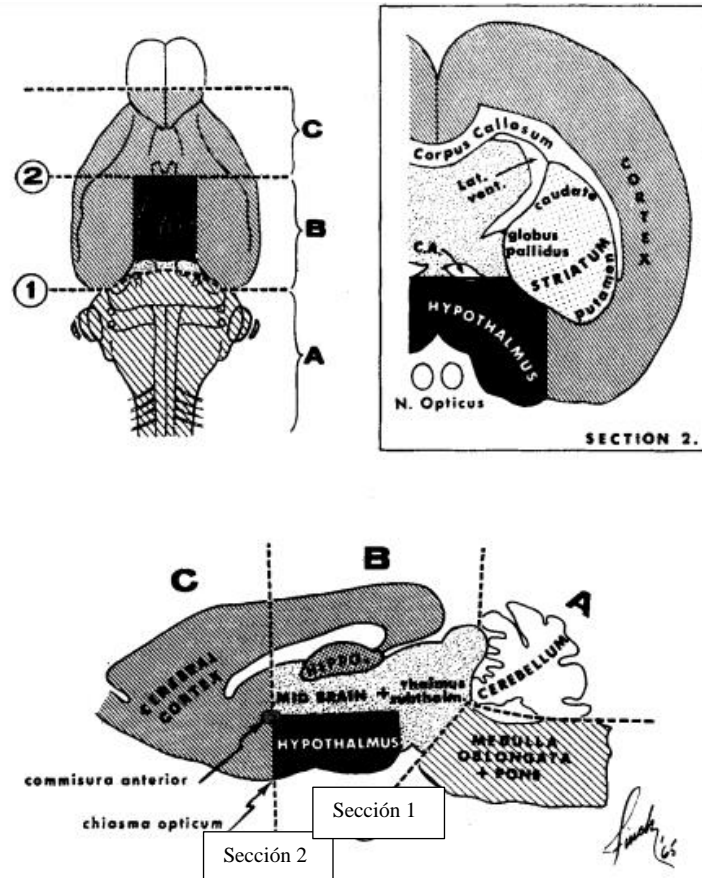


Figura 9. Secciones del cerebro diseccionadas<sup>32</sup>

#### 3.1. Objetivo general

Analizar el método fluorométrico para determinar glutatión en el cerebro de ratas expuesto a un modelo de epilepsia inducida

#### 3.2. Objetivos específicos

- Investigar el procedimiento del método fluorométrico para aplicarlo con muestras de cerebro de las ratas y determinar el glutatión.
- Revisar la viabilidad del uso de un ensayo fluorométrico para la determinación de glutatión en cerebros de ratas.

### 4. Metodología

Se realizó una investigación y revisión bibliográfica utilizando bases de datos como BiDiUAM, Google Scholar, Science Direct, SciELO, OMS, PubMed, Elsevier, entre otros),

usando palabras clave como: *estrés oxidativo en la epilepsia, epilepsia, glutatión en el cerebro, método fluorométrico, o-ftaldehído (OPA), antioxidantes, modelos de epilepsia, modelos de epilepsia, ácido kainico, disección cerebral y extracción de cerebro en ratas.*

La información obtenida se resumió y analizó para comprender el uso del método fluorométrico para la determinación de glutatión en el cerebro de las ratas expuestas a un modelo de epilepsia inducida por ácido kaínico a partir de un método fluorométrico usado en tejidos de hígado de ratas. Sin embargo, se excluyeron artículos cuyos procedimientos fueron usados con muestras de humanos y otros ajenos a modelos usados en ratas.

## 5. Actividades realizadas

Actividad/mes	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre
Búsqueda de información	X	X	X				
Análisis de información				X			
Discusión de la información					X		
Reporte final						X	X

## 6. Discusión

El estudio de la epilepsia en modelos experimentales ha permitido identificar algunos de los elementos que generan los distintos tipos de crisis, de tal manera que se han propuesto diversas terapias farmacológicas para tratar de controlar las crisis. A pesar de que las investigaciones dirigidas a las determinaciones de GSH han sido por medio de muestras de hígado, se ha ido investigando la posibilidad de realizar este método fluorométrico para muestras de cerebro. Sin embargo, es un desafío debido a las siguientes razones: el GSH puede autooxidarse fácilmente a GSSG, lo que da como resultado una relación GSH / GSSG más baja, la degradación proteolítica de GSH y GSSG por la  $\gamma$ -Glutamyl transferasa; la falta de un buen cromóforo UV / Vis o fluoróforo nativo, lo que hace que la medición directa no sea del todo práctica; y la alta polaridad, que dificulta la extracción de líquidos por disolventes orgánicos comunes además que la cantidad de GSH en el cerebro es menor a la del hígado la propuesta de un ajuste en el procedimiento del cual se está partiendo se tendría que realizar de manera practica para reportar de manera eficaz este método, ya que, son pocos los autores que han reportado cambios en metodologías a pesar de ser un método sensible, no tan caro y de manipulación sencilla.

El artículo en el cual esta investigación está basada, los autores lograron controlar algunas de las dificultades mencionadas como el ajuste de pH a la cual se debe llevar a cabo la determinación para evitar la que la conversión de GSH donde la solución fue añadir NEM y un buffer de fosfatos con la finalidad que el uso de reactivos también fuera evitar que lleguen a afectar la descomposición del GSH, un agente fluorescente (OPA) para que la

determinación fuera eficaz, además que en ambas sustancias no interfieren con la reacción u otra lectura y un modelo de epilepsia que ayudara a la determinación de glutatión con manipulación menor posible para evitar la pérdida de GSH. Por lo que, el uso del método fluorométrico para la determinación en cerebros con ratas es considerado de uso viable, ya que, el método presentado aquí ofrece la ventaja de medir el GSH y GSSG en la misma preparación de tejido con menos pasos siendo específico, reproducible y sensible, lo que resultaría eficaz para la determinación de GSH en cerebros de ratas considerando las recomendaciones y observaciones de los autores como eliminar el exceso de NEM, mantener el pH adecuado, la adecuada homogeneización y el uso correcto de OPA.

## 7. Conclusión

Tras el análisis del método fluorométrico, ha sido posible establecer de manera bibliográfica el procedimiento por el cual se llevaría a cabo la determinación de glutatión en cerebros de ratas con la finalidad de evaluar el estrés ocasionado por la epilepsia inducida, el método originalmente fue utilizado en muestras de hígado por lo que fue de suma importancia definir por medio de otro artículo la extracción del cerebro, y en todo sentido el tejido de interés además de tener en cuenta la parte ética que conlleva la realización del procedimiento con ratas y/o ratones de acuerdo a la norma mencionada. Sin embargo, se recomienda llevar a cabo de modo experimental el método para determinar si las recomendaciones que los autores plantean sobre el procedimiento son las adecuadas para ser utilizadas en la determinación de glutatión en el cerebro y así evaluar el estrés oxidativo ocasionado, ya que al ser un procedimiento que en principio fue usado con muestras de hígado, este puede variar en ciertos aspectos de la técnica usando tejido cerebral como la cantidad buffer, OPA, NEM y tiempo de exposición sin enfriamiento, y teniendo en cuenta que la cantidad de glutatión es mayor en el hígado que en el cerebro, este puede ser afectado si no se lleva a cabo la correcta manipulación de las muestras de tejido cerebral al momento de realizar el análisis. De este modo y a pesar de que son pocos los autores que reportan el uso de este método, se puede concluir que el método fluorométrico puede ser considerado de uso viable, de acuerdo con lo reportado en la bibliografía, siendo un procedimiento de manipulación sencilla, evitando un gasto excesivo de materiales y equipo, siempre y cuando se tome en cuenta las recomendaciones planteadas, además de ser precavidos con la disección del cerebro para obtener las muestras para que el método sea confiable, reproducible y específico.

## 8. Bibliografía

1. Lorigados, L, Morales, L.M., Orozco, S, Gallardo, J.M., Díaz-Hung, M.L., González, M.E., Estupiñán, B., Pavón, N., & Rocha, L. (2016). Oxidative stress in pharmacoresistant epilepsy. *Applied Biotechnology*, 33(2), 2101-2107.
2. Organización Mundial de la Salud (OMS). (2019). Epilepsia. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/epilepsy>
3. Pearson-Smith, JN; Patel, M. (2017). Disfunción metabólica y estrés oxidativo en la epilepsia. *En t. J. Mol. Sci.* 18, 2365. <https://doi.org/10.3390/ijms18112365>
4. Aoyama K. (2021). Glutathione in the Brain. *International journal of molecular sciences*, 22(9), 5010. <https://doi.org/10.3390/ijms22095010>



5. Rossi, W. M., Garrido, G., & Sellés, A. J. N. (2016). Biomarcadores del estrés oxidativo en la terapia antioxidante. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 4(2), 62-83.
6. Pereno, Germán L. (2010). Fisiopatología de la Epilepsia del Lóbulo Temporal: Revisión del Proceso de Muerte Neuronal a la Neuroplasticidad. *Revista Argentina de Ciencias del Comportamiento*, 2(1), 46-57
7. Falco-Walter, J. J., Scheffer, I. E., & Fisher, R. S. (2018). The new definition and classification of seizures and epilepsy. *Epilepsy Research*, 139, 73–79. doi: 10.1016/j.eplepsyres.2017.11
8. ILAE (International League Against Epilepsy). (2017). "Epilepsy classification". Revisado de: <https://www.epilepsydiagnosis.org/index.html>
9. Raol, Y. H., & Brooks-Kayal, A. R. (2012). Experimental Models of Seizures and Epilepsies. *Animal Models of Molecular Pathology*, 57–82. doi:10.1016/b978-0-12-394596-9.00003-2
10. Garcia Garcia, M. E., Garcia Morales, I., & Matías Guiu, J. (2010). Modelos experimentales en epilepsia. *Neurología*, 25(3), 181–188. doi:10.1016/s0213-4853(10)70007-4
11. Zavala-Tecuapetla, C., & López-Meraz, M. L. (2011). Modelos experimentales de epilepsia en ratas en desarrollo.
12. Lévesque, M., & Avoli, M. (2013). The kainic acid model of temporal lobe epilepsy. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 37(10), 2887–2899. Doi: 10.1016/j.neubiorev.2013.10.011
13. III Sampieri, Aristides; Rivera-Espinosa, Liliana; Zavala-Tecuapetla, Cecilia. Modelos experimentales de la epilepsia del lóbulo temporal. *Acta Pediátrica de México*, [S.l.], v. 32, n. 5, p. 311-312, jul. 2014. ISSN 2395-8235.
14. Martínez J., Torres P.V., Juárez M.A. (2011). El glutatión y su asociación con las enfermedades neurodegenerativas, la esquizofrenia, el envejecimiento y la isquemia cerebral. *Revista de Educación Bioquímica*, 30(2), 56-67.
15. Díaz-Hung, M. L., & González Fraguela, M. E. (2014). El estrés oxidativo en las enfermedades neurológicas: ¿causa o consecuencia? *Neurología*, 29(8), 451–452. doi: 10.1016/j.nrl.2013.06.022
16. Hidalgo, M. Á. G. (2018). Estrés oxidativo y antioxidantes. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 22(1), 29-46.
17. Pisoschi, A. M., Pop, A., Iordache, F., Stanca, L., Predoi, G., & Serban, A. I. (2020). Oxidative stress mitigation by antioxidants - an overview on their chemistry and influences on health status. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 112891. doi: 10.1016/j.ejmech.2020.112891
18. Zamora, J. D. (2007). Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. *Revista chilena de nutrición*, 34(1), 17-26.
19. Hissin, P. J., & Hilf, R. (1976). A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Analytical Biochemistry*, 74(1), 214–226. doi:10.1016/0003-2697(76)90326-2
20. Hamad, A., Elshahawy, M., Negm, A. & Mansour, F. (2019). Analytical methods for determination of glutathione and glutathione disulfide in pharmaceuticals and biological fluids. *Reviews in Analytical Chemistry*, 38(4), 20190019. <https://doi.org/10.1515/revac-2019-0019>

21. Díaz-Hung, M-L, González, M. E., & Blanco, L. (2015). El sistema antioxidante del glutatión en la etiopatología de la disfunción nigro-estriatal. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 34(2), 168-186.
22. Skoog, D.A., Holler F.J., & Crouch S. (2008) “Principios de analisis instrumental”. Cengage Learning Editores. Sexta edición. Capitulo quince. Pp 400-418.
23. JoVE Science Education Database. General Laboratory Techniques. Introducción a la microscopía de fluorescencia. JoVE, Cambridge, MA, (2021).
24. Calatayud, J. M., & Icardo, M. C. (2005). FLOW INJECTION ANALYSIS | Clinical and Pharmaceutical Applications. *Encyclopedia of Analytical Science*, 76–89. doi:10.1016/b0-12-369397-7/00159-x
25. Gómez-Hens, A. (2005). Fluorescence | Food Applications. *Encyclopedia of Analytical Science*, 186–194. doi:10.1016/b0-12-369397-7/00172-2
26. Floreani, M., Petrone, M., Debetto, P. y Palatini, P. (1997). Una comparación entre diferentes métodos para la determinación de glutatión reducido y oxidado en tejidos de mamíferos. *Free Radical Research*, 26 (5), 449–455. doi: 10.3109 / 10715769709084481
27. Čapek, J., Hauschke, M., Brůčková, L., & Roušar, T. (2017). Comparison of glutathione levels measured using optimized monochlorobimane assay with those from ortho-phthalaldehyde assay in intact cells. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 88, 40–45. doi: 10.1016/j.vascn.2017.06.001
28. Roušar, T., Kučera, O., Lotková, H., & Červinková, Z. (2012). Assessment of reduced glutathione: Comparison of an optimized fluorometric assay with enzymatic recycling method. *Analytical Biochemistry*, 423(2), 236–240. doi:10.1016/j.ab.2012.01.030
29. Cohn VH, Lyle J. A fluorometric assay for glutathione. *Anal Biochem*. 1966 Mar;14(3):434-40. doi: 10.1016/0003-2697(66)90286-7. PMID: 5944947.
30. Francioso A, Fanelli S, Cavallaro RA, Fontana M, Mattioli R, D’Erme M, Mosca L. (2021). Fluorometric Optimized Determination of Total Glutathione in Erythrocytes. *Separations*. 8(6):83. <https://doi.org/10.3390/separations8060083>
31. Norma Oficial Mexicana. NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
32. Glowinski, J., & Iversen, L. L. (1966). Regional studies of catecholamines in the rat brain-i. *Journal of Neurochemistry*, 13(8), 655–669. doi:10.1111/j.1471-4159.1966.tb09873.x

Vo. Bo. de Asesores:



Dra. Tomasa Verónica Barón Flores No. 26848



Dr. Luis Camilo Ríos Castañeda No. 16190

**No. de páginas:** 19

**Lugar de realización:** Laboratorio de neurofarmacología molecular de la UAM-Xochimilco

**Prácticas realizadas en:** Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco

**Proyecto genérico:** Evaluación de productos relacionados con la salud

**Contiene:**

- |                                      |   |
|--------------------------------------|---|
| <input type="checkbox"/> Fotografías | <input checked="" type="checkbox"/> [ X ]           |
| <input type="checkbox"/> Gráficas    | <input type="checkbox"/> Mapas                      |
| <input type="checkbox"/> Tablas      | <input checked="" type="checkbox"/> [ X ] Diagramas |
| <input type="checkbox"/> Trípticos   |   |

**Vo.Bo. Asesor:**

**Fecha liberación texto completo:** 20211207

**NOTA:** La versión digital de este reporte, solo podrá ser consultada en cualquier Unidad académica de la Universidad, incluyendo a Rectoría General



Casa abierta al tiempo

**UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA  
UNIDAD XOCHIMILCO**

**División de Ciencias Biológicas y de la Salud**

**Departamento de Sistemas Biológicos**

**Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica**

Investigación documental del método fluorométrico para la determinación de glutatión en cerebros de ratas expuestas a un modelo de epilepsia inducida por ácido kaínico.

Romero Cruz, Martha Zuliet

2163066039

**Asesores**

Interno: Barón Flores, Tomasa Verónica

Externo: Ríos Castañeda, Luis Camilo 

**06 de Diciembre de 2021**

Sistemas Biológicos  
Química Farmacéutica Biológica

Investigación documental del método fluorométrico para la determinación de glutatión en cerebros de ratas expuestas a un modelo de epilepsia inducida por ácido kaínico.

Romero Cruz, Martha Zuliet 2163066039

Interno: Barón Flores, Tomasa Verónica  
Externo: Ríos Castañeda, Luis Camilo

06 de Diciembre de 2021

19

Laboratorio de neurofarmacología molecular de la UAM-Xochimilco

Evaluación de productos relacionados con la salud

X

X

20211207