

**UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA  
UNIDAD XOCHIMILCO**

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS**

**LICENCIATURA EN QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA  
PROYECTO DE SERVICIO SOCIAL**

**TÍTULO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN:**

**“Evaluación del efecto de la administración de glutatión liposomal sobre la actividad de glutatión peroxidasa en ratas Wistar macho.”**

**PERTENECIENTE AL PROYECTO GENÉRICO**

Evaluación de la biodisponibilidad de glutatión suministrado en un sistema liposomal y su impacto en marcadores de estrés oxidante en ratas Wistar macho

**Alumno:** Ileri Johana Hernández Rojas

**Matrícula:** 2193068336

**Lugar de realización:**

Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra

Durante el periodo comprendido del 15 de diciembre de 2023 al 15 de junio del 2024.

**V.o B.o de los asesores de los contenidos académicos**

Dra. Betzabeth Anali García Martínez (No. de cédula 13385395)

Dr. Luis Camilo Ríos Castañeda (no. económico 16190)



Handwritten signatures of the academic advisors, including a circular stamp and a signature that appears to be 'A. Camilo Ríos Castañeda'.

## **1 INTRODUCCION**

La Glutación Peroxidasa (GPx) es una enzima vital que protege las células contra el estrés oxidativo al reducir peróxidos utilizando glutación reducido (GSH) como sustrato. Descubierta inicialmente en eritrocitos bovinos por Millis en 1957, se ha encontrado que GPx está presente en diversos tejidos y organismos, siendo crucial para mantener la integridad celular al neutralizar especies reactivas de oxígeno (ERO)<sup>1</sup>.

En enfermedades como la artritis reumatoide (AR), donde el estrés oxidativo juega un papel clave en su desarrollo, se observa una reducción significativa de los niveles de GPx y GSH en sangre y líquido sinovial. Esto indica un aumento del estrés oxidativo en las articulaciones afectadas, exacerbado por la sobreproducción de ERO y mediadores inflamatorios como el TNF- $\alpha$  y las interleucinas, que pueden inhibir la actividad de GPx<sup>2</sup>.

La investigación sobre GPx en AR no solo busca entender su rol patogénico, sino también explorar posibles enfoques terapéuticos. Estrategias para aumentar la actividad de GPx o la disponibilidad de GSH, como la suplementación con selenio, pueden ser prometedoras para mejorar la capacidad antioxidante en estos pacientes<sup>3</sup>.

## **2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACION**

La AR es una enfermedad autoinmune que aqueja principalmente a las mujeres adultas, la cual afecta principalmente a articulaciones diartroidiales, deteriorando la capacidad funcional de las extremidades<sup>4</sup>. El tratamiento se enfoca en reducir el proceso oxidativo de las células, ya que se ha detectado la presencia de ERO, mismas que desempeñan un papel fundamental en las enfermedades degenerativas debido a que causan un mal funcionamiento en las mitocondrias de las células<sup>5</sup>. Uno de estos tratamientos, consiste en incrementar las concentraciones de glutación a nivel sistémico, sin embargo, este es una molécula que se ve afectado por el ambiente ácido del sistema digestivo, causando su degradación y en consecuencia no sea aprovechado de la forma esperada por el organismo. Se han buscado nuevas formas de administración, una de ellas es el empleo de liposomas que son pequeñas vesículas esféricas que tienen la capacidad de encapsular sustancias tan diversas como lo son medicamentos, genes, proteínas entre otros, es decir actúan como mensajeros que transportan los compuestos químicos al lugar indicado, protegiendo su carga del exterior y evitando dañar a los tejidos sanos, por este motivo se plantea utilizarlos como acarreadores para que el glutación pueda ser administrado por vía oral<sup>6</sup>.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 General:**

Evaluar el efecto de la administración oral de glutatión liposomal sobre la actividad de glutatión peroxidasa en ratas Wistar macho como alternativa de defensa antioxidante.

#### **3.2 Específicos**

- 3.2.1** Validar la técnica para cuantificación de glutatión peroxidasa siguiendo los lineamientos establecidos por NOM-177-SSA1-2013 con la finalidad de tener un método preciso y exacto.
- 3.2.2** Administrar las formulaciones de glutatión liposomal y N-acetilcisteína vía oral a ratas Wistar macho para la obtención de muestras de cerebro e hígado.
- 3.2.3** Cuantificar la actividad de glutatión peroxidasa utilizando la técnica de espectro espectroscopia de UV-vis y comparar su efecto antioxidante.

### **4 ANTECEDENTES**

#### **4.1 Artritis reumatoide**

La AR es una enfermedad sistémica, inflamatoria y crónica que afecta predominantemente las articulaciones. Su característica distintiva es la activación de diversas poblaciones celulares en las articulaciones y la producción de mediadores proinflamatorios como citocinas, prostaglandinas y proteasas<sup>7</sup>. Aunque se clasifica comúnmente como una enfermedad autoinmune, aún no se han identificado los antígenos específicos que desencadenan la respuesta inmune. Se caracteriza por la alteración de los mecanismos de tolerancia inmunológica, lo que provoca una respuesta inmune persistente y exagerada. Esta respuesta se manifiesta a través de la formación de clones de células T autorreactivas y la producción espontánea de autoanticuerpos dirigidos contra estructuras celulares propias o autoantígenos<sup>4</sup>. Debido al incremento de leucocitos se provoca la liberación de citocinas proinflamatorias y radicales libres. Dichos eventos son los responsables de iniciar un proceso de inflamación y atraer otras células inmunológicas al sitio afectado. A medida que progresa la enfermedad, estas especies reactivas desempeñan un papel crucial en la destrucción del cartílago y contribuyen a la sinovitis proliferativa. En este contexto, la interleucina 8 emerge como un factor relevante, atrayendo neutrófilos al área afectada, estos a su vez, liberan ERO, contribuyendo al proceso inflamatorio y al daño articular característico de la AR<sup>8</sup>. Como consecuencia se obtiene un efecto sobre la homeostasis del sistema redox en la célula, causando estrés oxidante, el cual a su vez afecta a la estructura y función celular.

#### **4.2 Estrés Oxidativo.**

El estrés oxidativo (EO) es un estado caracterizado por un desequilibrio entre las moléculas prooxidantes, que incluyen especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (ERON), y las defensas antioxidantes, favoreciendo a las primeras y con implicaciones negativas en la homeostasis

del organismo debido al daño celular, tisular y sistémico. Las ERON son generadas por diversos procesos tanto endógenos como exógenos, y sus efectos negativos son contrarrestados por las defensas antioxidantes. El EO se produce cuando existe un desequilibrio entre la producción de ERON y estas defensas antioxidantes. Este desempeña un papel crucial en el desarrollo de la patogénesis de muchas enfermedades y en el proceso de envejecimiento. En un estado de estrés oxidativo, se observa un aumento en la concentración de especies reactivas, lo que puede desencadenar una señalización intracelular alterada, llevando a la desregulación de la respuesta inflamatoria<sup>9</sup>.

Este fenómeno se ha asociado con más de 100 enfermedades crónico-degenerativas entre ellas la artritis reumatoide<sup>10</sup>. El estrés oxidativo es altamente favorecido por la producción de los radicales libres, que se definen químicamente como átomos o moléculas con un electrón no apareado en su último orbital, lo que los hace altamente reactivos y propensos a oxidar lípidos de membrana, carbohidratos, proteínas e incluso ADN, Aunque se generan naturalmente durante el metabolismo y la respiración celular, también pueden surgir en respuesta a factores exógenos como los rayos UV, radiaciones ionizantes, contaminación ambiental, humo de cigarrillo y ejercicio intenso<sup>11</sup>. Los principales tipos de radicales libres son las especies reactivas de oxígeno (EROs), como el ion radical superóxido, peróxido de hidrógeno (no radical pero muy oxidante) y radical hidroxilo (el más reactivo). La cadena de reacciones que lleva a su formación puede generar agua como producto final si se desintoxican correctamente, pero bajo condiciones desfavorables como la presencia de iones metálicos o deficiencias en donadores de electrones, pueden acumularse y causar daño celular<sup>12</sup>.

Para contrarrestar los efectos nocivos de las especies oxidantes, el organismo emplea sistemas antioxidantes que actúan tanto dentro como fuera de las células. Los antioxidantes primarios, como las enzimas superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPx), previenen la formación de radicales libres y los transforman en compuestos menos dañinos. Por otro lado, los antioxidantes secundarios intervienen una vez formados los radicales para evitar su propagación y convertirlos en formas menos reactivas<sup>13</sup>. Cuando hay un desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes a favor de los primeros, se desarrolla estrés oxidativo. Este estado bioquímico puede evaluarse mediante la medición de productos de oxidación de biomoléculas, como los lipoperóxidos, que se cuantifican espectrofotométricamente mediante métodos como el del ácido tiobarbitúrico (TBA)<sup>13</sup>.

### **5.3 Mecanismos de defensa antioxidante enzimáticos**

constituyen la primera línea de defensa contra el estrés oxidativo, y su función es prevenir el daño oxidativo interactuando directamente con las especies reactivas de oxígeno (ERO). Estas enzimas actúan como catalizadores y son recicladas de manera eficiente después de su acción. Entre las enzimas que forman parte de este sistema antioxidante enzimático se encuentran el superóxido dismutasa (SOD), la catalasa y el glutatión peroxidasa (GPx)<sup>14</sup>.

#### **5.4 Sistema Glutación**

La GPx (glutación peroxidasa) es una enzima clave del sistema de glutación, ya que regula la conversión del glutación reducido (GSH) en glutación oxidado (GSSG). Además de la GPx, la glutation reductasa (GR) y la glutation-S-transferasa (GST) también desempeñan un papel importante en este sistema. Este sistema de glutación es esencial para mantener el equilibrio redox en las células y es conocido actualmente como el "Sistema Detoxificante y Antioxidante del Glutación" o simplemente "Sistema GSH"<sup>15</sup>.

#### **5.5 Glutación**

El glutación es el tiol antioxidante celular más abundante, presente en concentraciones mmols. Se trata de un tripéptido compuesto por los aminoácidos glutamato, cisteína y glicina. El glutación desempeña funciones antioxidantes importantes y actúa como cofactor esencial para enzimas como el glutación peroxidasa y glutación S-transferasa, que protegen contra radicales libres y peróxidos. Además, actúa como donante de electrones al reducir enlaces disulfuro en proteínas citoplasmáticas de cisteínas, transformándose en su forma oxidada llamada disulfuro de glutación (GSSH). En las células, la forma reducida de glutación (GSH) es más abundante que su forma oxidada<sup>16,17</sup>.

#### **5.6 Glutación peroxidasa Gpx.**

La Glutación Peroxidasa (GPx) fue identificada en eritrocitos bovinos por Millis en 1957 y posteriormente encontrada en otros tejidos, incluyendo eritrocitos humanos, pulmones y hígados de ratas, así como en músculos, piel y hepatopáncreas de peces, sugiriendo que es una enzima presente en diversos organismos<sup>18</sup>. Existen al menos tres variantes de GPx que dependen del selenio: la forma intracelular o celular (GPx-c), la forma extracelular o plasmática (GPx-p) y la forma específica para fosfolipoperóxidos (GPx-PH), que suele estar asociada a membranas. Aunque estas variantes comparten la misma función, presentan diferencias estructurales<sup>19</sup>.

##### **5.6.1 Estructura de GPx**

La GPx-c y la GPx-p son enzimas tetraméricas, compuestas por cuatro subunidades idénticas, cada una con un átomo de selenio unido covalentemente a una molécula de cisteína. Las secuencias de aminoácidos de las subunidades de GPx-c difieren de las de GPx-p. Además, GPx-p es una proteína glicosilada con puentes disulfuros intramoleculares. El peso molecular de GPx-c es de 22 kD, mientras que el de GPx-p es de 25 kD, cada una con aproximadamente 221 aminoácidos por subunidad. Las subunidades individuales no tienen actividad catalítica. Por otro lado, GPx-PH es una enzima monomérica también con un átomo de selenio, que sí posee actividad catalítica y un peso molecular de 18 kD<sup>20</sup>. GPx-c se localiza en la mitocondria y el citosol de las células hepáticas, en el citosol de eritrocitos formando complejos con la hemoglobina, y en el lisosoma de neutrófilos, macrófagos y otras células fagocíticas del sistema inmune. Se han observado diferencias entre sexos en cuanto a la actividad de la

enzima, los niveles de ARNm y las concentraciones de selenio en el hígado de ratas y ratones, con una mayor actividad en el sexo femenino<sup>21</sup>.

### **5.6.2 Función de GPx**

La función principal de esta enzima es neutralizar los peróxidos, un tipo específico de radicales libres. Para lograr esto, utiliza glutatión en su forma reducida como un donante de electrones<sup>22</sup>. De esta manera, la Glutatión Peroxidasa transforma los peróxidos en sustancias menos dañinas, como agua. Durante este proceso, el glutatión se oxida, pero nuestro cuerpo puede regenerarlo de nuevo a su forma reducida para que pueda seguir protegiendo nuestras células contra el daño oxidativo<sup>23</sup>.

Las Glutatión Peroxidasas (GPx) son un grupo de enzimas vitales que desempeñan un papel fundamental en la protección celular contra el estrés oxidativo. Aunque todas tienen una función antioxidante similar, cada tipo tiene características específicas<sup>24</sup>:

- Glutatión Peroxidasa 1 (GPx1): Es la más común y se encuentra en la mayoría de las células del cuerpo. Su función principal es neutralizar peróxidos de hidrógeno y lípidos peroxidados, convirtiéndolos en productos menos dañinos.
- Glutatión Peroxidasa 2 (GPx2): Se expresa principalmente en el revestimiento del tracto gastrointestinal y protege estas células del daño oxidativo, siendo crucial para la salud intestinal.
- Glutatión Peroxidasa 3 (GPx3): Predomina en el plasma y se encuentra en concentraciones elevadas en los riñones, donde desempeña un papel vital en la protección contra el estrés oxidativo.
- Glutatión Peroxidasa 4 (GPx4): Destaca por su capacidad única para reducir lípidos peroxidados en membranas celulares y lipoproteínas circulantes, esencial para mantener la integridad celular.

GPx requieren glutatión para funcionar correctamente, subrayando la importancia de mantener niveles adecuados de glutatión en el cuerpo para proteger nuestras células del daño oxidativo<sup>25</sup>.

### **5.7 Los liposomas.**

Son vesículas esféricas compuestas por una bicapa lipídica en medios acuosos. Los lípidos que componen esta bicapa pueden ser de origen natural o sintético, y se caracterizan por tener una parte hidrófila en la cabeza y una parte lipófila en la cola. El tamaño de los liposomas puede variar desde unos 20 nanómetros hasta algunas decenas de micrómetros. Estas estructuras pueden encapsular fármacos hidrofílicos en su interior y fármacos hidrofóbicos en la parte externa de la bicapa lipídica para su transporte y liberación controlada<sup>26</sup>. Los sistemas liposomales, al ser dispositivos artificiales compuestos por una o varias capas de fosfolípidos, tienen una estructura molecular que permite la adaptación de agentes activos

mediante mecanismos específicos. Esto brinda una prometedora capacidad para la administración de fármacos mediante la creación de enlaces químicos entre los lípidos y fragmentos de anticuerpos o ligandos<sup>27</sup>.

## **6 MATERIALES Y METODOS.**

Se utilizaron 18 ratas Wistar macho con un peso entre 250 – 270 g y fueron alojadas en un ambiente controlado, a una temperatura de  $22 \pm 5$  °C y HR  $55 \pm 5\%$ . Se les proporcionó comida y agua ad libitum. Los animales fueron divididos en 3 grupos siguiendo las recomendaciones del comité de ética para el manejo de animales de laboratorio de la unidad de producción y experimentación del Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra, así como la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. El número de unidades experimentales se mantuvo al mínimo posible (n= 6).

**Diseño experimental:** a cada animal se le designó un número de identificación que se consignó en el espacio "Roedor n°, grupo n". Los grupos se distribuyeron de la siguiente manera:

- Grupo A: Animales tratados con N-acetilcisteína (NAC) por dos semanas como precursor de GSH. Se administraron 266 mg/kg de NAC por vía oral (p.o.), preparado con agua destilada mediante una sonda.
- Grupo B: Animales tratados con 500 mg/kg de glutatión liposomal por vía oral durante dos semanas (producto de referencia).
- Grupo C: Animales tratados con Glutafixx (500 mg/kg de glutatión, producto de prueba nacional) por dos semanas.

Los tratamientos se administraron p.o. con una sonda de acero inoxidable curva calibre 16x3'' con punta roma. Cada grupo recibió el tratamiento durante 14 días y fueron sacrificados el día 15 por decapitación. Se obtuvieron muestras de sangre, cerebro e hígado, las cuales se almacenaron a -70 °C hasta su análisis.

**Validación del ensayo de determinación de actividad enzimática de GPx:** Se elaboró un protocolo para verificar los métodos según los requisitos establecidos por la NOM-177-SSA1-2013, incluyendo la evaluación de la linealidad, exactitud, precisión, precisión intermedia y estabilidad.

### **Determinación de la actividad enzimática GPx**

La actividad de la enzima GPx se midió utilizando un método de oxidación de GSH. Los datos fueron corregidos por el contenido de proteína, determinado mediante la técnica de Lowry. Se tomó una alícuota de muestra que contenía 500 µg de proteína y se agregó una

solución amortiguadora de fosfatos que contenía 5 mM de EDTA (pH=7), GSH (2.0 mM) y NaN<sub>3</sub> (0.01 M). Tras una incubación a 37°C durante 5 min, se añadieron 250 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1.25 mM) y se incubaron nuevamente durante 3 min. Se tomó una alícuota de 250 µL y se diluyó con una solución de ácido metaforfórico. Después de centrifugar las muestras a 1500 g durante 30 min, se tomó una alícuota del sobrenadante y se diluyó en solución amortiguadora en una relación 1:1. Se añadieron 25 µL de ácido 5,5-ditiobis-2-nitrobenzoico y se incubaron durante 2 min a temperatura ambiente. Las muestras se leyeron a 412 nm en un lector de placas Biotek Instruments Inc. Los resultados se obtuvieron por extrapolación de una curva de calibración con 6 concentraciones crecientes de una mezcla de GSH + EDTA (pH = 7.0) + ácido 5,5-ditiobis-2-nitrobenzoico. Los resultados se expresaron como µmol GSH/500 µg proteína/30 min.

Se realizó un estudio estadístico empleando el programa GraphPad Prism. En los resultados obtenidos de hígado se empleó una prueba no paramétrica la cual fue Kruskal-Wallis. Mientras que para los otros dos tejidos del cerebro se empleó una prueba de ANOVA.

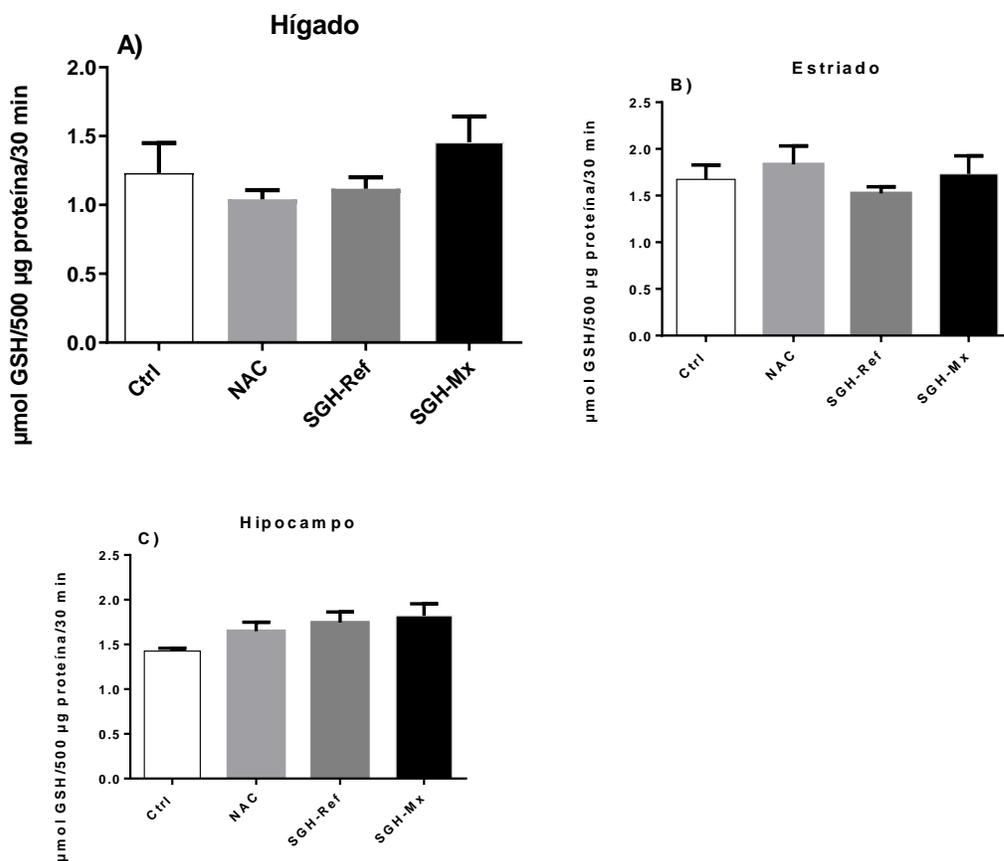
## 7 RESULTADOS Y DISCUSION

De acuerdo con lo que se observa en los resultados que se obtuvieron, vemos que la actividad de Gpx no tiene un cambio significativo entre los grupos, tanto el grupo que no fue administrado con un tratamiento como los que fueron administrados con glutatión liposomal presentan niveles similares. En hígado observamos que el valor va desde 1.04 a 1.53 mientras que en estriado va de 1.52 a 1.83 y en hipocampo va de 1.65 a 1.82.

Tabla 1. Promedio de la actividad de glutatión peroxidasa en los tejidos obtenidos de 4 grupos de ratas con tratamientos diferentes.

µmol GSH/500 µg proteína/30 min				
Tejido/Grupo	Control	NAC	Nacional	Referencia
Hígado	1.23±0.22	1.04±0.07	1.46±0.19	1.53±0.41
Estriado	1.67±0.15	1.83±0.2	1.73±0.19	1.52±0.07
Hipocampo	1.73±0.23	1.65±0.1	1.82±0.14	1.74±0.12

Gráfica.1. Promedios de los datos obtenidos en la actividad de glutatión peroxidasa. A) Promedios de los tres grupos en hígado. B) Promedios de los tres grupos en estriado. C) Promedios de los tres grupos en hipocampo.



Cuando aumenta el estrés oxidativo, se activa el glutatión peroxidasa (GPx), una enzima crucial para la eliminación del peróxido. Sin embargo, la GPx puede ser inactivada por varias sustancias fisiológicas, como el óxido nítrico y compuestos carbonílicos, tanto in vitro como en cultivos celulares. También se ha observado una reducción en la actividad de GPx en tejidos sometidos a estrés oxidativo en diversos modelos animales patológicos<sup>28</sup>. La acumulación de peróxido debido a la inactivación de GPx puede actuar como un segundo mensajero, regulando la expresión de genes antiapoptóticos y de la misma GPx para proteger las células del daño. Estos resultados sugieren que la GPx se inactiva bajo diferentes condiciones (como el estrés nitroxidativo y glicooxidativo), lo que parece ser una característica común en varios tipos de estrés oxidativo, asociados con alteraciones en la regulación redox y la función celular.

Al relacionar los resultados obtenidos en los grupos investigados: control, N-Acetilcisteína, Glutación producto nacional y referencia, no podemos asegurar que el nivel de estrés oxidativo conduce a la actividad de GPX y que concentración se expresa puesto en los grupos no se observan diferencias significativas. Los resultados también sugieren que, además de la actividad de GPx es importante en la predicción del estado redox tisular

El glutatión peroxidasa-1 (GPx-1) es una enzima antioxidante que convierte el peróxido de hidrógeno en agua para minimizar sus efectos dañinos. Aunque el peróxido de hidrógeno y otras especies reactivas de oxígeno son importantes para procesos como la transducción de señales de factores de crecimiento, la función mitocondrial y el equilibrio redox de tioles, GPx-1 regula estos procesos al reducir su acumulación. Dado que Gpx es una enzima que se expresa para contrarrestar el estrés oxidativo se piensa que los grupos no mostraron diferencia significativa por este motivo.

## 8 CONCLUSION

La glutatión proxidasa (Gpx) se considera una de las principales enzimas antioxidantes, por tal motivo su actividad enzimática es objeto de estudio como indicador de estrés oxidativo. en este estudio se realizó una determinación de su actividad, como alternativa para determinar si la administración de una formulación de glutatión liposomal fabricada en México es equivalente a una formulada en Estados Unidos.

Con los resultados discutimos obtenemos que no existe diferencia entre administrar o no la formulación, sin embargo, no podemos afirmar que esta no funcione, se tendrían que realizar más estudios acerca de la administración, cuantificando tioles u otras especies antioxidantes, así como también observar la biodisponibilidad, e incluso hacer un estudio empleando un modelo de artritis reumatoide.

## 9 BIBLIOGRAFIA

1. Lam, K. W., Wang, L., Hong, B. S., & Treble, D. (1993). Purification of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase from bovine retina. *Current eye research*, 12(1), 9-15.
2. Sánchez, E. C. (2017). Actualización del tratamiento de la artritis reumatoide Update of the rheumatoid arthritis' treatment.
3. Maiorino, M., Chu, F. F., Ursini, F., Davies, K. J., Doroshov, J. H., & Esworthy, R. S. (1991). Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase is the 18-kDa selenoprotein expressed in human tumor cell lines. *Journal of Biological Chemistry*, 266(12), 7728-7732.
4. Kan, S., Duan, M., Liu, Y., Wang, C., & Xie, J. (2021). Role of mitochondria in physiology of chondrocytes and diseases of osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Cartilage*, 13(2\_suppl), 1102S-1121S.
5. Sinha, R., Sinha, I., Calcagnotto, A., Trushin, N., Haley, J. S., Schell, T. D., & Richie, J. P. (2018). Oral supplementation with liposomal glutathione elevates body stores of glutathione and markers of immune function. *European journal of clinical nutrition*, 72(1), 105-111.
6. Bonola, I. F., Irigoyen, M. E., Vera, L. I., Campero, A., & Hamdan, A. (2014). Estrés oxidante: el sistema enzimático glutatión y la salud bucal. *Ciencias clínicas*, 15(1), 2-8.

7. Sansaricq Coto, I., Céspedes Miranda, E. M., Molinet Fuertes, E. J., & Peña Sánchez, M. (2015). Indicadores biológicos y de estrés oxidativo en la evolución de pacientes con artritis reumatoide. *Revista Cubana de Reumatología*, 17(2), 132-138.
8. Stamp, L. K., Khalilova, I., Tarr, J. M., Senthilmohan, R., Turner, R., Haigh, R. C., Winyard, P. G., & Kettle, A. J. (2012). Myeloperoxidase and oxidative stress in rheumatoid arthritis. *Rheumatology* (Oxford, England), 51(10), 1796–1803. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kes193>
9. Jaramillo-Morales, O. A., Bautista, M., Velázquez-González, C., & Guerrero-Solano, J. A. (2022). Estrés oxidativo en la neuropatía diabética dolorosa: evidencia y tratamiento frente a las especies reactivas. *Revista de la ALAD*, 12(4).
10. Jaramillo-Morales, O. A., Bautista, M., Velázquez-González, C., & Guerrero-Solano, J. A. (2022). Estrés oxidativo en la neuropatía diabética dolorosa: evidencia y tratamiento frente a las especies reactivas. *Revista de la ALAD*, 12(4).
11. . Korc, I., Bidegain, M., & Martell, M. (1995). Radicales libres. *Rev Med*, 11, 121-135.
12. Sarangarajan, R. S. P. G., Meera, S., Rukkumani, R., Sankar, P., & Anuradha, G. (2017). Antioxidants: Friend or foe?. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 10(12), 1111-1116.
13. , I. (2006). Radicales libres: Algunas consideraciones clínicas. *Gaceta Médica de Caracas*, 114(2), 91-98.
14. Morales, C., Hita, A., & Gelpi, R. J. (1999). Fisiología integrada de la hipertrofia cardíaca. *Rev Argent Cardiol*, 67(3), 377-88.
15. Damas Hermoso, F. (2021). Análisis de proteínas relacionadas con estrés oxidativo en saliva y suero de enfermos de Parkinson idiopático.
16. Zhu, S., Makosa, D., Miller, B., & Griffin, T. M. (2020). Glutathione as a mediator of cartilage oxidative stress resistance and resilience during aging and osteoarthritis. *Connective tissue research*, 61(1), 34-47.
17. Setti, T., Arab, M. G. L., Santos, G. S., Alkass, N., Andrade, M. A. P., & Lana, J. F. S. D. (2021). The protective role of glutathione in osteoarthritis. *Journal of clinical orthopaedics and trauma*, 15, 145-151.
18. Lam, K. W., Wang, L., Hong, B. S., & Treble, D. (1993). Purification of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase from bovine retina. *Current eye research*, 12(1), 9-15
19. Maiorino, M., Chu, F. F., Ursini, F., Davies, K. J., Doroshow, J. H., & Esworthy, R. S. (1991). Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase is the 18-kDa selenoprotein expressed in human tumor cell lines. *Journal of Biological Chemistry*, 266(12), 7728-7732.
20. Takahashi, K., Akasaka, M., Yamamoto, Y., Kobayashi, C., Mizoguchi, J., & Koyaxna, J. (1990). Primary structure of human plasma glutathione peroxidase deduced from eDNA sequences. *The Journal of Biochemistry*, 108(2), 145-148.
21. Pigeolet, E., & Remacle, J. (1991). Alteration of enzymes in ageing human fibroblasts in culture. V. Mechanisms of glutathione peroxidase modification. *Mechanisms of ageing and development*, 58(1), 93-109.
22. Feijóo, M., Túnez, I., Ruiz, A., Tasset, I., Muñoz, E., & Collantes, E. (2010). Biomarcadores de estrés oxidativo como indicadores de actividad en la enfermedad articular inflamatoria crónica. *Reumatología Clínica*, 6(2), 91-94.
23. Gallardo, I. B., Camachob, M. I., Roblesc, L. V., Celisd, A. C., & Partidab, A. H. (2015). Ciencias Clínicas.
24. Maiorino, M., Chu, F. F., Ursini, F., Davies, K. J., Doroshow, J. H., & Esworthy, R. S. (1991). Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase is the 18-kDa selenoprotein expressed in human tumor cell lines. *Journal of Biological Chemistry*, 266(12), 7728-7732.
25. Guija-Guerra, H., & Guija-Poma, E. (2023). Radicales libres y sistema antioxidante. *Horizonte Médico (Lima)*, 23(2).
26. Ruano Aldea, M. (2013). Fabricación de liposomas y de cápsulas poliméricas.

27. Lian, T., & Ho, R. J. (2001). Trends and developments in liposome drug delivery systems. *Journal of pharmaceutical sciences*, 90(6), 667-680.
28. Miyamoto, Y., Koh, Y. H., Park, Y. S., Fujiwara, N., Sakiyama, H., Misonou, Y., ... & Taniguchi, N. (2003). Oxidative stress caused by inactivation of glutathione peroxidase and adaptive responses.