ISBN 970-27-1045-6

CUANTIFICACIÓN DE ACIDO GLUTÁMICO Y SU CORRELACIÓN CON LA ACTIVIDAD ELECTROENCEFALOGRÁFICA DE ALTA FRECUENCIA EN UN MODELO DE EPILEPSIA EXPERIMENTAL

Jesús Raúl Beltrán Ramírez, Alberto Morales Villagrán, Laura Medina Ceja, Consuelo Ventura Mejía

Laboratorio de Neurofisiología y Neuroquímica, Departamento de Biología Celular y Molecular, CUCBA, Universidad de Guadalajara.

La participación del sistema de neurotransmisión mediada por glutamato durante el proceso convulsivo se ha evidenciado mediante diversos abordajes tanto bioquímicos como farmacológicos. Al tratar de relacionar las alteraciones bioquímicas con la actividad fisiológica producidas durante las crisis con los métodos cuantitativos existentes resulta muy difícil de evaluar, principalmente en la resolución temporal de dichos eventos. La técnica de microdialisis in vivo ha resuelto el problema de la resolución espacial, ya que se pueden realizarse cuantificaciones de diversos neurotransmisores en una área discreta del cerebro, sin embargo la innumerable colección de muestras para su posterior análisis por cromatografía de líquidos con el fin de acercarse a la resolución temporal de los eventos fisiológicos, hace prácticamente imposible la utilización de esta metodología para valorar de forma particular la participación del glutamato durante la actividad electrofisiológica de alta frecuencia durante los procesos convulsivos. Por esta razón, resulta importante el diseño e implementación de nuevos métodos de análisis en los que se puedan medir los cambios en la concentración de glutámico con un alto grado de resolución espacial y temporal de unos cuantos segundos. En el presente trabajo se plantea la posibilidad de utilizar la técnica de microdialisis in vivo acoplada a la cuantificación de glutámico por medio de un biosensor recientemente desarrollado en el laboratorio de Neurofisiología y Neuroquímica, con lo cual se podrá realizar la colecta y análisis automatizado de muestras de dializado con una resolución temporal de unos cuantos segundos.

El equipo consta de un sistema electrónico basado en microprocesadores que permite que sea completamente autónomo al momento de recolectar las muestras así como de la lectura de las mismas con base a la identificación cuantitativa de dinucleotido de nicotinamida (NADH) en su forma reducida por inducción de fluorescencia, este compuesto es el producto de la reacción de la glutamato deshidrogenasa con el glutámico. El sistema electrónico es de diseño único ya que se realizo para este proyecto especialmente para poder controlar el movimiento del sistema de muestreo y análisis con la precisión que se requiere.

Se utiliza un microprocesador HC12 de motorola de 16 bits con un sistema de interfase mined que permite una rápida modificación del programa así como la prueba del mismo de una forma modular.

El lenguaje de programación se hace mediante el software code warrior también suministrado por motorola (acceso libre) mediante lenguaje ensamblador.

Las ventajas de un sistema automatizado son evidentes al dar menos espacio para los errores humanos así como para contar con un sistema rápido fácil de usar y sobre todo que cumpla con las exigencias del usuario. En el presente trabajo se presentan avances sobre el desarrollo de este sistema. Ya que el equipo se encuentra muestreando de manera correcta con intervalos de tiempo de cada 5 segundos (el cual es completamente manipulable de acuerdo a las características de programación con el que se realizo el equipo). Así mismo las muestras son homogéneas para así poder realizar posteriormente la lectura de las mismas.

Se busca que el equipo evolucione para poder ser más fácil para el usuario y cada vez más preciso con mayores posibilidades de explotación científica.