

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

SUBDIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO



Efecto anticonvulsivo de la combinación Cannabidiol-metformina en un
modelo de convulsiones crónicas.

Por

ADOLFO JOSÉ ZAMORA ACEVES

Como requisito parcial para la obtener el grado de
MAESTRÍA EN CIENCIAS con orientación en farmacia.

2026

Efecto anticonvulsivo de la combinación Cannabidiol-metformina en un
modelo de convulsiones crónicas.

Aprobación de la Tesis

DRA. MÓNICA AZUCENA RAMÍREZ CABRERA
Presidente

DR. EDER U. ARREDONDO ESPINOZA
Secretaria

DRA PATRICA GONZALEZ BARRANCO
Vocal

DR. JAVIER RIVERA DE LA ROSA
Sub-Director de Estudios de Posgrado

Efecto anticonvulsivo de la combinación Cannabidiol-metformina en un
modelo de convulsiones crónicas.

Revisión de la Tesis

DRA. MÓNICA AZUCENA RAMÍREZ CABRERA
Asesora

DR. OMAR GONZALEZ SANTIAGO
Co-Asesor

DRA PATRICA GONZALEZ BARRANCO
Comité tutorial

DR. EDER U. ARREDONDO ESPINOZA
Comité tutorial

DR. JULIO A. MARTINEZ MELENDEZ
Comité tutorial

RESUMEN

LCQ. Adolfo Jose Zamora Aceves.

Fecha de Graduación: 2026

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Ciencias Químicas

Título del Estudio: Efecto anticonvulsivo de la combinación Cannabidiol-metformina en un modelo de convulsiones crónicas.

Número de páginas: 60

Candidato al grado de Maestro en

Ciencias con Orientación en Farmacia

Propósito y Método del Estudio: Se han reportado las propiedades antiepilépticas del CBD y de la metformina en diferentes modelos animales, con buenos resultados, actuando mediante mecanismos diferentes. Con base en esto, el proyecto buscó estudiar si al combinar el CBD con la metformina se obtiene un mejor efecto antiepiléptico que el de los tratamientos individuales. Para esto se utilizó un modelo de Kindling con PTZ utilizando ratas Wistar macho, dividiéndolas en los siguientes grupos: controles (sin tratamiento, CBD, metformina y la combinación), PTZ, y PTZ recibiendo los tratamientos (CBD, metformina y la combinación). La duración del estudio fue de 15 días, utilizando dosis de 25mg/kg de PTZ en días alternos, y las dosis de los tratamientos, 60mg/kg de CBD y 200mg/kg de metformina, y se observaron durante media hora posteriores a la administración de PTZ. Una vez concluido se realizó el sacrificio para la toma de sangre para estudios bioquímicos de función hepática. La combinación mostró un efecto similar a los tratamientos individuales a las dosis empleadas en este proyecto, no presentando una diferencia significativa entre ellos.

Contribuciones y Conclusiones: La combinación de CBD-metformina presentó un efecto anticonvulsivo similar al de los tratamientos individuales a las dosis utilizadas. Las pruebas bioquímicas para daño hepático mostraron que los tratamientos utilizados no generaron un daño hepático a las dosis y tiempos utilizados en el proyecto.

Firma de los directores de tesis

Dra. Mónica A. Ramírez Cabrera

Director de Tesis

Dr. Omar González Santiago

Codirector de Tesis

AGRADECIMIENTOS



Se agradece a la Universidad Autónoma de Nuevo León por el financiamiento del proyecto.



A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación por la beca de manutención otorgada.



A la Facultad de Ciencias Químicas por la infraestructura y las facilidades otorgadas para el presente trabajo de investigación.

A la Dra. Mónica A. Ramírez Cabrera, por el esfuerzo de apoyar, supervisar y enseñarme todo lo necesario para la realización del proyecto.

Agradezco al Dr. Omar González Santiago, por todo el apoyo y aportes en la realización del presente trabajo.

Al comité tutorial por el apoyo en la revisión, sus recomendaciones y correcciones a lo largo de todo el proyecto que permitieron mejorar el trabajo realizado.

Al departamento de Farmacología y Toxicología de la Facultad de Medicina, a la Dra. Lourdes Garza Ocañas y al MVZ. Gilberto Alvarez por el espacio brindado en el bioterio y su apoyo y durante el proyecto.

Al Dr. Adolfo Soto Dominguez por permitirme realiza una estancia de Investigación.

Por Grace®

A la fundación PorGrace y a la Sra. Mayela Benavides Arriola por la donación del aceite de Cannabidiol usado para este proyecto.

Parte este proyecto se financió con el proyecto de Ciencia de Fronteras, CF-2023-I-1563, denominado “Efecto anticonvulsivo y sinérgico del Cannabidiol combinado con ácido valproico, metformina, furosemida o bilobalida, en un modelo murino de convulsiones agudas y refractarias.

DEDICATORIA

A mis padres, Adolfo Zamora Cruz y Ana María Aceves González, quienes han sido el pilar más importante en mi vida. Gracias por cada sacrificio, por cada palabra de aliento y por creer en mí incluso cuando yo mismo dudaba. Su amor, paciencia y apoyo incondicional me dieron la fortaleza para superar cada obstáculo y alcanzar esta meta. Espero que este logro sea una pequeña muestra de la inmensa gratitud y orgullo que siento por ser su hijo. Este trabajo está dedicado a ustedes.

A mis abuelos: Juan Zamora Velásquez, María Esthela Cruz Pineda, José Antonio Aceves Cabrera y Lilia Iluminda González Perez. Que viven para siempre en mi corazón. Gracias por su amor, sus enseñanzas y el legado que dejaron en mi vida. Esta meta también es en su honor.

A mis amigos: Gerado, Manuel, Berenice, Nancy, Alejandra, Fernando, Rodolfo, Luca, Kayden. Gracias por estar presentes a lo largo de este camino. Su compañía, apoyo, comprensión y palabras de aliento hicieron más llevaderos los momentos de mayor esfuerzo y desafío. Gracias por celebrar mis logros, motivarme a seguir adelante y recordar la importancia de disfrutar cada etapa del proceso. Este logro también lleva un poco de cada uno de ustedes.

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo	Página
TABLA DE CONTENIDO	vii
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABLAS	xii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Epilepsia	1
1.2 Etiología	3
1.3 Fisiopatología	4
1.4 Cuadro clínico	6
1.5 Tratamientos.....	10
1.5.1 Farmacológico.....	10
1.5.2 Quirúrgico	12
1.6 Otras Alternativas Terapéuticas	13
1.6.1 Cannabidiol	13
1.6.2 Metformina	16
1.7 Reposicionamiento Farmacológico	19
1.8 Modelos de Kindling.....	20
1.8.1 Modelo PTZ “Kindling”	21
2. JUSTIFICACIÓN	23

3. ANTECEDENTES	24
3.1 CBD como anticonvulsivo	24
3.2 Metformina como anticonvulsivo.....	27
3.3 Modelos PTZ	31
4. APORTACIÓN CIENTÍFICA	33
5. HIPÓTESIS.....	34
6. OBJETIVOS	35
6.1 Objetivo General.....	35
6.2 Objetivos específicos	35
7. METODOLOGÍA.....	36
7.1 Materiales.	36
7.2 Reactivos.	36
7.3 Equipo.....	36
7.4 Experimental.	37
7.4.1 Modelo PTZ.	37
7.4.2 Toma de Muestras de Sangre y Sacrificio.....	39
7.4.3 Pruebas Bioquímicas para Marcadores de Daño Hepático.	39
7.4.4 Manejo de Residuos	39
7.4.5 Estadística.	39
8. RESULTADOS.	41
8.1 Modelo “Kindling” PTZ.	41

8.1.1	Intensidad.....	41
8.1.2	Latencia.....	43
8.1.3	Duración.....	45
8.2	Pruebas Bioquímicas Para Daño Hepático	47
9.	DISCUSIÓN.....	49
10.	CONCLUSIONES.	51
11.	PERSPECTIVAS	52
	BIBLIOGRAFÍA.....	53
	APÉNDICES	60
	Apéndice 1: Escala Modificada de Racine [30]	60

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Distribución geográfica donde los estudios de prevalencia de la epilepsia fueron llevados a cabo en México. Reimpreso de [2].	2
2. Esquema de la Secretaría de Salud para la administración de fármacos. Reimpreso de [9].	11
3. Estructuras del Cannabidiol, THC, THCV, CBDA y CBDV. Reimpreso de [13].	14
4. Representación de los componentes principales del sistema endocannabinoide, incluyendo las rutas metabólicas de los endocannabinoides. CB1/CB2, receptores cannabinoides 1 y 2; 2-AG, 2-araquidonoilglicerol; FAAH, hidrolasa de amidas de ácidos grasos; MAGL, lipasa de monoacilglicerol; DAGL, EMT: transportadores de membrana de endocannabinoides; NAT, N-acetiltransferasa; NArPE, N-araquidonil fosfatidiletanolamina; NAPE-PLD, fosfolipasa específica de N-acilfosfatidiletanolamina D; DAGL, diacilglicerol lipasa. Adaptado de [15].	15
5. Mecanismo de acción del CBD en epilepsia. Adaptado de [16].	16
6. Estructura de la guanidina y sus derivados mono-guanidina, diguanidina y biguanidas, incluyendo la metformina. Adaptado de [17].	18
7. Mecanismos de acción antiepilépticos de la metformina. Adaptado de [18].	19
8. Mecanismo del PTZ en la inducción de convulsiones. Adaptado de [22].	22
9. Intensidad de las convulsiones en los diferentes grupos y la frecuencia de sacudidas de perro mojado (WDS). (**p<0.01). Adaptado de [23].	25

10. Intensidad de las convulsiones en los grupos sin y con tratamiento. dpi, días post infección; DI, durante la administración; AM y PM, 4 y 9 horas posteriores a la administración del CBD en la mañana. Adaptado de [24].	26
11. Efecto del CBD y fenobarbital sobre la severidad de las convulsiones inducidas por pilocarpina. (* $p < 0.05$, **** $p < 0.0001$). Reimpreso de [25].	27
12. Efecto de la metformina en el tratamiento de las convulsiones. Valores son promedios $\pm$ SD. (* $p < 0.05$, ** $p < 0.005$). Adaptado de [26].	28
13. Respuesta a las pruebas de estímulo. a) Respuesta al tacto, b) levantar, c) chasquido de dedos, d) respuesta aproximación. (* $p < 0.05$ con respecto al control, # $p < 0.05$ con respecto al tratamiento). Adaptado de [27].	29
14. Gráfica de barras de la intensidad promedio observada por cada grupo en los diferentes días. (* $p < 0.05$ comparado con el grupo PTZ).	43
15. Gráfica de barras de la Latencia de los diferentes Grupos en segundos.	45
16. Grafica de barras de la duración de las convulsiones de los diferentes Grupos en segundos.	47
17. Promedio de las concentraciones de: a) ALT, b) AST, c) fosfatasa alcalina, d) proteínas totales, e) albumina, f) globulina.	48

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
I. Principales fármacos antiepilépticos, mecanismo y sus efectos adversos.	12
II. Intensidad de las convulsiones. Recreado de [28].	30
III. Latencia de las convulsiones. Recreado de [28].	31
IV. Duración de las convulsiones. Recreado de [28].	31
V. Grupos, Tratamientos, Dosis, Tiempos y Vía de Administración.	38
VI. Intensidades de los diferentes grupos del modelo murino “Kindling” en base a la escala modificada de Racine.	41
VII. Número de individuos afectados por grupo y la intensidad promedio de las crisis sufridas por grupo.	42
VIII. Latencia de los diferentes grupos del modelo murino “Kindling” con su respectiva intensidad. L, latencia; I, intensidad; los valores de latencia están en segundos y la intensidad es en base a la escala de Racine modificada.	44
IX. Promedio de las latencias en cada grupo en segundos.	44
X. Duración de las convulsiones de los diferentes grupos del modelo murino “Kindling” con su respectiva intensidad. D, duración; I, intensidad; los valores de duración están en segundos y la intensidad es en base a la escala de Racine modificada.	46
XI Promedio de la duración de las convulsiones en cada grupo en segundos.	46

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Epilepsia

La epilepsia es un desorden cerebral pronominalmente caracterizado por una recurrente e impredecible interrupción de la actividad cerebral normal. Por otro lado, referirse a la epilepsia como una sola enfermedad es incorrecto, ya que existen una gran variedad de desórdenes que tiene por efecto la alteración en la función cerebral, con diferentes factores como causa [1]. La diversidad de desórdenes que pueden asociarse al desarrollo de epilepsia dificulta una generalización en el tratamiento.

Es el desorden neuronal más común que afecta a población de todas las edades. Se estima que en el mundo 69 millones de personas lo padecen, con una prevalencia de epilepsia activa de 6.38 por cada 1000 habitantes (número total de casos en un momento designado). El 65% de las personas con epilepsia viven en regiones rurales de países en desarrollo, el 25% en áreas urbanas de esos países y el 10% restante en países desarrollados. Mundialmente, 2.4 millones de personas son diagnosticadas al año [2].

En México la prevalencia de epilepsia es de 25 por cada 1000 habitantes, la más alta en América Latina. La población de México es de más de 126 millones de habitantes, 78.8% en áreas urbanas 21.2% en áreas rurales. Esto quiere decir que más de 3.15 millones de personas en México padecen de epilepsia. En la Figura 1 se muestra la distribución geográfica de donde se han realizado estudios de prevalencia en México. Sin embargo, como en otros países en desarrollo, existe una falta de estudios epidemiológicos y la revisión de estos, los cuales son fundamentales para la implementación de políticas de salud pública [2].



Figura 1. Distribución geográfica donde los estudios de prevalencia de la epilepsia fueron llevados a cabo en México. Reimpreso de [2].

Se denomina crisis convulsiva a la interrupción de la actividad cerebral causada por algún desorden epiléptico. Existen diversas clasificaciones para los tipos de convulsiones. La más utilizada es la que clasifica a las convulsiones en: generalizadas, aquellas que se originan en ambos hemisferios del cerebro, y focales, que se origina en un solo hemisferio [3]. Uno de los tipos principales de convulsiones son las tonicoclónicas, también llamadas epilepsia mayor o gran mal, en los que se presenta pérdida del conocimiento, caída al piso, rigidez o espasmos musculares [4]. La identificación del tipo de crisis convulsiva es importante para el adecuado diagnóstico de cada paciente, así como para el tratamiento y cuidados [5].

Clínicamente un paciente es diagnosticado con epilepsia cuando presenta: al menos dos convulsiones no provocadas en un periodo de 24 horas, una convulsión no provocada y

una probabilidad igual o menor al 60% de recurrencia observado tras dos convulsiones no provocadas en un periodo de diez años o haber sido diagnosticado con un síndrome epiléptico. El riesgo de presentar una convulsión después de un primer episodio es de 40 - 52%. El riesgo de presentar una tercera convulsión en los 4 años posteriores a la segunda aumenta al 73%. La epilepsia se considera resuelta en un paciente que ha salido del rango aplicable para un síndrome epiléptico que depende de edad; o quienes han estado libres de convulsiones por al menos 10 años y sin medicamentos anticonvulsivos por al menos 5 años [5].

1.2 Etiología

Las causas de la epilepsia se pueden clasificar en genéticas, estructurales, metabólicas, infecciosas y neurodegenerativas. Las lesiones estructurales de la corteza cerebral pueden desencadenar convulsiones y epilepsia, el tipo de convulsión depende de la ubicación de la lesión y lo de su naturaleza:

- 1) Las lesiones que pueden causar epilepsia se dividen en seis categorías principales de enfermedades: esclerosis hipocampal, malformaciones del desarrollo cortical, malformaciones vasculares, cicatrización glial e inflamación cerebral.
- 2) Las causas genéticas se presentan asociadas a alteraciones genéticas que alteran la función o producción de diferentes factores. Las primeras en ser identificadas de este tipo fueron las enfermedades monogénicas familiares, donde variaciones en la secuenciación de proteínas generan una sustitución de aminoácidos. También pueden ser causadas por desbalances de cromosomas, como duplicaciones mayores a una kilobase o rearrreglo de cromosomas.

- 3) Las causas metabólicas se deben al fallo de órganos, deficiencias nutricionales, autoinmunes o por drogas y toxinas exógenas. Estas por lo general no generan directamente una epilepsia, a menos que ocurra un daño permanente en el cerebro, como hipoglicemia o hiperamonemia.
- 4) Por otro lado, diferentes infecciones pueden causar una predisposición a las convulsiones a través de pirexia, liberación de citoquinas, disfunciones metabólicas, y la generación de autoinmunidad. La encefalitis y la meningitis son dos infecciones asociadas a un riesgo incrementado de epilepsia.
- 5) Finalmente, la epilepsia puede ocurrir en pacientes que presentan enfermedades neurodegenerativas, sin embargo, no se ha determinado una clara asociación como resultado del proceso fisiopatológico de la enfermedad neurodegenerativa o simplemente causa de la muerte de neuronas que genera una disrupción en las redes neuronales. El Alzheimer y Parkinson son dos enfermedades neurodegenerativas que están asociadas con un incremento en el riesgo de epilepsia [6]. El conocer la causa es importante para la determinación de un tratamiento adecuado.

1.3 Fisiopatología

La fisiopatología de la epilepsia involucra diferentes mecanismos y alteraciones a nivel molecular de las interacciones entre las neuronas. La hiperexcitabilidad de las neuronas se genera cuando una neurona reacciona de manera fuerte a los estímulos recibidos de otra neurona. Estas neuronas suelen iniciar más de una o dos descargas lo que se conoce como hypersincronía. Esto junto con alteraciones en los mecanismos de inhibición de canales

iónicos genera un aumento en la excitabilidad y sincronidad de las neuronas y una convulsión epiléptica [7; 8].

Existen dos mecanismos principales que actúan en la amplificación, sincronidad y propagación de las señales neuronales: no sinápticos y sinápticos. En el caso de los no sinápticos se encuentran alteraciones en el microambiente iónico, principalmente potasio extracelular lo que incrementa la excitabilidad, algunas neuronas como las del hipocampo son especialmente sensibles a estos cambios. El transporte activo de iones también es de importancia para la regulación de la excitabilidad, la activación de bombas de $\text{Na}^+\text{-K}^+$ regulan la excitabilidad durante descargas neuronales excesivas y un mecanismo de co-transporte de $\text{Cl}^-\text{-K}^+$ controla la concentración intracelular de Cl^- y su gradiente a través de la membrana, lo que regula la efectividad de la inhibición activada por GABA [7; 8].

Por su parte los mecanismos sinápticos son aquellos regulados principalmente por los neurotransmisores GABA y glutamato. GABA es un inhibidor que regula la excitabilidad de las neuronas mediante la hiperpolarización de la membrana y estabilizando el potencial de la membrana. Por su parte el glutamato es el principal neurotransmisor que aumenta la excitabilidad. Su efecto en los receptores NMDA permiten la despolarización de las neuronas y un incremento de Ca^+ intracelular. Alteraciones que inhiban el efecto del GABA o que aumenten los efectos del glutamato, generan un desbalance en la regulación de las transmisiones sinápticas lo que genera una descarga descontrolada entre las neuronas provocando una actividad epiléptica [7; 8].

1.4 Cuadro clínico

El cuadro clínico de la epilepsia presenta diferentes manifestaciones. La guía clínica de la secretaría de salud[9] las divide de la siguiente manera:

Crisis parciales focales o localizadas: Estas se explican por una disfunción en alguna región partícula del cerebro y EEG con descarga localizada, con duración de segundos a unos pocos minutos. Se clasifican en simples, complejas y crisis parciales secundariamente generalizadas.

Las crisis simples son aquellas en las que no ocurre una pérdida de la consciencia, y se clasifican como motoras, sensitivas, autonómicas, psíquicas. Las motoras pueden ser: sin marcha, contracciones tónicas o clínicas que se presentan en un solo segmento del cuerpo; con marcha, que inician en un segmento del cuerpo y se propagan a todo un hemicuerpo; versivas, desviación lateral de los ojos con versión de la cabeza en el mismo sentido y posible elevación de extremidades del lado al que se voltea; posturales, donde se detiene el movimiento normal u ocurren posturas forzadas; fonatorias, en donde se emiten sonidos que pueden ser gritos. En el caso de las sensitivas se presentan los siguientes casos: somatosensoriales, en las que se presenta alguna sensación (adormecimiento, calor, frialdad, dolor o pérdida de percepción) en algún segmento corporal y puede propagarse a todo un hemicuerpo; auditivas, en donde se percibe un sonido simple, como un zumbido; visuales, donde se percibe un fenómeno visual simple, como luces, colores o manchas; olfatorias, en donde se percibe un olor desagradable; gustativas, donde se percibe un sabor habitualmente desagradable; vertiginosas, donde se presenta una sensación de vértigo por unos segundos. Las autonómicas son todas aquellas que están relacionados con el sistema

nervioso autónomo, como son: náuseas, cambios en la presión arterial, frecuencia cardíaca, etc. Y las psíquicas que se pueden presentar de las siguientes formas: difásicas, en donde se pierde la comprensión y expresión del lenguaje durante la crisis; dismnésicas, percibir como conocido algo nuevo o como desconocido algo conocido; cognitivas, percibir una idea no relacionada a la acción o pensamientos durante la crisis; afectivas, cambios súbitos del estado de ánimo; ilusiones, alteración en las percepciones como, colores, tamaños, posiciones de objetos; alucinaciones, recordar situaciones que no ocurrieron.

En las crisis complejas existe una desconexión del medio, pero se mantiene la capacidad de recordar lo ocurrido. Suelen ser precedidas por una crisis parcial simple, seguida de acciones involuntarias por unos segundos en ocasiones complejas, conocidas como automatismos. Después de la crisis sigue un periodo de confusión transitorio antes de recuperar un estado de alerta total.

En las crisis parciales secundariamente generalizadas se puede generar una convulsión generalizada tónico – clónica después de una simple o compleja, si se origina en un sitio específico del cerebro y posteriormente se generaliza.

Crisis Generalizadas: Estas se presentan con un EEG con descargas generalizadas que varían según el tipo de crisis. Estas se clasifican en Crisis de Ausencia, Crisis Mioclónica, Crisis Tónico, Crisis Clónica, Crisis Tónico – Clónica y Crisis Atónicas.

En las crisis de ausencia existen dos tipos las crisis típicas y las atípicas. Las crisis típicas se presentan como una desconexión del medio por unos segundos, generalmente menos de 45 segundos, durante los cuales los pacientes mantienen una mirada perdida. Puede ir acompañada de fenómenos clónicos leves, automatismos, fenómenos atónicos,

tónicos, autonómicos. Terminada la crisis el paciente recupera bruscamente el estado de alerta. En un EEG se observan descargas generalizadas de complejo punta – onda lenta de 3 ciclos por segundo. En el caso de las atípicas la desconexión es más tardada y se presentan fenómenos tónicos. La recuperación es lenta para recuperar el estado de alerta. En el EEG se observan complejos punta o polipunta – onda lenta de 2-2.5 ciclos por segundo.

Las crisis mioclónicas se presentan como contracciones musculares súbitas, en ocasiones generalizadas y pueden hacer que el paciente caiga. El EEG se presenta como con polipuntas generalizadas.

En las crisis tónicas existe una pérdida de la conciencia con contracciones tónicas generalizadas (contracción sostenida del músculo) de una duración general menor a los dos minutos. La recuperación presenta un estado de confusión acompañado de cefalea (dolor de cabeza), astenia (sensación de fatiga) y adinamia (pérdida de fuerza).

Las crisis clónicas se presentan con la pérdida de la conciencia y contracciones clónicas (rítmicas y repetitivas) de las cuatro extremidades. La recuperación es similar al caso de las crisis tónicas.

Las crisis tónicas – clónicas se manifiestan con pérdida de la conciencia, a veces con un grito, contracciones tónicas de las extremidades por unos segundos, posteriormente contracciones clónicas generalizadas, con cianosis (coloración azulada por falta de oxígeno en la sangre), respiración estertorosa, excreción de saliva y flemas, midriasis (dilatación de las pupilas) y en algunos casos puede haber excreción de orina. Su duración

suele ser de 2 a 3 minutos y su recuperación presenta un periodo de confusión acompañado de cefalea, sueño y dolor corporal generalizado.

Las crisis atónicas se presentan como una pérdida momentánea de la conciencia con una caída súbita, en ocasiones solo caída de la cabeza.

Crisis no clasificadas: En estas crisis no es posible identificar si se inicia de forma parcial o generalizada y se incluyen las neonatales.

Las crisis también pueden clasificarse según la periodicidad en la que se manifiestan en un paciente: crisis fortuitas son aquellas que se presentan sin periodicidad u horarios particulares, las crisis relacionadas a estímulos no sensoriales son provocadas por alteración metabólicas o detener abruptamente el consumo de sustancias (alcohol, drogas) o fármacos, las crisis reflejas se presentan como respuesta a ante un estímulo sensorial (luces parpadeantes, sonidos intensos súbitos); finalmente, las crisis cíclicas que coinciden con periodos específicos del sueño o en el ciclo menstrual.

Cuando ocurre una serie de crisis epilépticas por más de 30 minutos o sin recuperación de la alerta entre ellas se denomina Estado Epiléptico. El estado parcial motor ocurre cuando se presentan contracciones clónicas de un segmento corporal por horas o días. En el estado parcial complejo el paciente sufre crisis parciales complejas constantes resultando en un estado de confusión. El estado epiléptico generalizado tónico – clónico se observa cuando en un periodo de al menos 30 minutos existe una recurrencia de las crisis tónico – clónicas o crisis frecuentes de este tipo sin que el paciente recupere la conciencia. En el estado epiléptico de ausencia hay una repetición continua de estados de ausencia típica resultando en un estado de confusión.

1.5 Tratamientos.

1.5.1 Farmacológico

Las tres principales formas para el tratamiento de la epilepsia son los farmacológicos, quirúrgicos e implantes. La principal forma de tratamiento de la epilepsia es mediante el uso de fármacos. Desde finales del siglo XIX y principios del siglo XX se empezó el descubrimiento y desarrollo de fármacos antiepilépticos, siendo el primero en usarse el fenobarbital. En la década de los sesenta se empezó a utilizar el diazepam, carbamazepinas y ácido valproico, en los setenta el clonazepam. A partir de los noventa, y a la actualidad se empezaron a desarrollar los antiepilépticos de segunda generación, entre los que podemos destacar algunos como la gabapentina, levetiracetam, topiramato, retigabina; estos buscando no solo tener un mejor efecto, si no también reducir los efectos adversos presentes en los antiepilépticos de primera generación [10; 11]. En la Figura 2 se presenta el esquema sugerido por la Secretaría de Salud para la determinación del tratamiento adecuado según el tipo de crisis que se presenta.

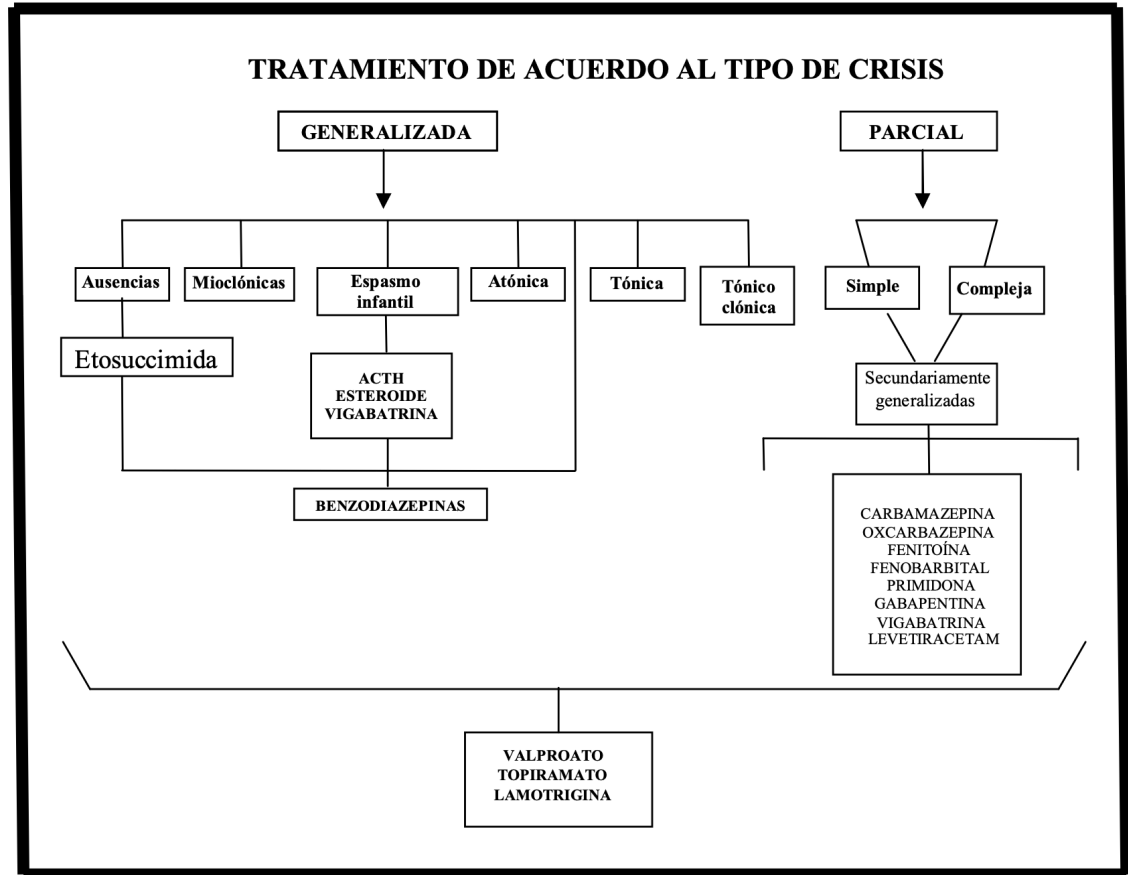


Figura 2. Esquema de la Secretaría de Salud para la administración de fármacos.
Reimpreso de [9].

En la Tabla 1 podemos observar algunos de los fármacos usados, su mecanismo de acción y sus efectos adversos. Adicionalmente a los efectos adversos existen epilepsias resistentes a los fármacos (DRE), esto afecta a aproximadamente un tercio de los pacientes con epilepsia. Para estos casos se consideran opciones como los quirúrgicos, implantes o el desarrollo y uso de nuevas alternativas farmacológicas.

Tabla I. Principales fármacos antiepilépticos, mecanismo y sus efectos adversos.

Fármaco	Mecanismo	Efectos Adversos
Topiramato	Bloqueo de canales de sodio, incremento de la actividad de GABA	Náusea, mareos, somnolencia, diarrea, depresión, pérdida de apetito
Valproato	Inhibidor de la GABA transaminasa	Somnolencia, mareos, dolor de cabeza, diarrea, estreñimiento, cambios en el apetito
Fenitoína	Bloqueador de canales de sodio	Insomnio, pérdida de la coordinación, confusión, dificultad para hablar.
Levetiracetam	Bloqueador de canales de calcio, estimulación presináptica de SV2A	Debilidad, inestabilidad al caminar, mareos, confusión, irritabilidad, agresión, dolor de cabeza, pérdida de apetito.

1.5.2 Quirúrgico

Una alternativa en el tratamiento de las DRE son los procedimientos quirúrgicos. Existen diferentes métodos para realizar estos procedimientos como son la recesión de punto epileptogénico, procedimientos de desconexión (en casos en donde los puntos

epileptognicos no son viables para ser extirpados sin causar riesgos), procedimientos de ablación mínimamente invasivos (vía radiofrecuencia o radiocirugía) o implantes de control de convulsiones (estimulación del nervio vago o estimulación cerebral profunda). Sin embargo, estos procedimientos tienen riesgos como son deficiencias cognitivas, derrames de fluido cerebroespinal, infecciones y existe un riesgo de que las convulsiones puedan volver en algunos casos. El acceso a este tipo de procedimientos ya sea por deficiencias en los servicios de salud, personal médico capacitado para ello, y protocolos adecuados para su selección también son limitantes para que estos procedimientos adopten mayor aceptación [12].

1.6 Otras Alternativas Terapéuticas

1.6.1 Cannabidiol

La planta *Cannabis sativa* y sus extractos han sido utilizados desde hace siglos en tratamientos herbolarios para tratar diferentes padecimientos. En China es usada desde 2900 AC y en India desde 1000 AC, y sus usos incluían tratamiento para dolores de articulaciones, espasmos musculares, gota, malaria, como analgésico, hipnótico, tranquilizante y antiinflamatorio. A partir del siglo XIX se han estudiado sus propiedades en la medicina occidental, sin embargo, debates sobre su legalidad por su uso como droga psicoactiva y recreacional han detenido los avances sobre su estudio. A pesar de las restricciones por las legislaciones, la investigación en torno a estos extractos se incrementó en la década de los años sesenta y setenta, pudiendo identificar el componente psicoactivo, siendo este el delta-9-tetrahidrocannabinol (delta-9-THC). En México el uso recreacional de esta planta fue legalizado en 2021 [13].

El cannabidiol (CBD) (Figura 3) es uno de los compuestos más abundantes en la *C. sativa*. Este compuesto ha presentado múltiples bioactividades y beneficios a la salud sin las propiedades psicoactivas. Estudios relacionados con la actividad del CBD sugieren que su principal mecanismo es mediante el sistema endocannabinoide, pero también se ha observado que interactúa con otros receptores como GPR55, GABA_A, TRPM8, entre otros [13].

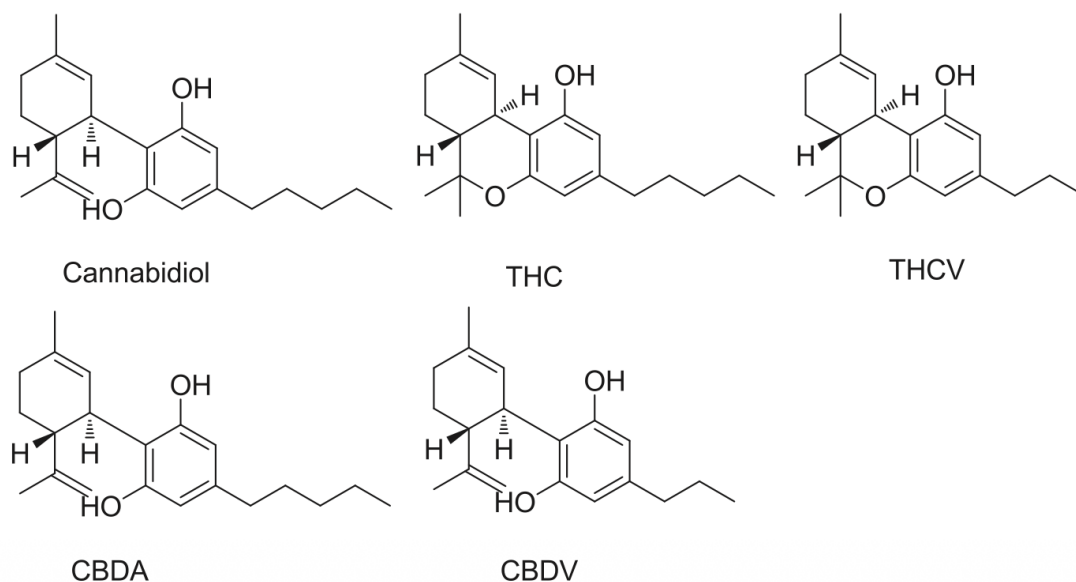


Figura 3. Estructuras del Cannabidiol, THC, THCV, CBDA y CBDV. Reimpreso de [13].

El sistema endocannabinoide incluye dos receptores principales (CB1 y CB2) y dos ligandos endógenos llamados endocannabinoides: la anandamida (AEA) y 2-araquidonoilglicerol (2-AG). El CB1 se expresa altamente en el sistema nervioso central, principalmente las asociadas con control motriz, respuestas emocionales, motivación y homeostasis de la energía. También se expresa en el corazón, hígado, páncreas, músculos, tejido adiposo. El CB2 se expresa principalmente en el sistema inmune y tejidos relacionado a las funciones inmunes [15]. El CBD se une a estos receptores de forma

alostérica. En la Figura 4 se muestra el sistema endocannabinoide y sus componentes principales.

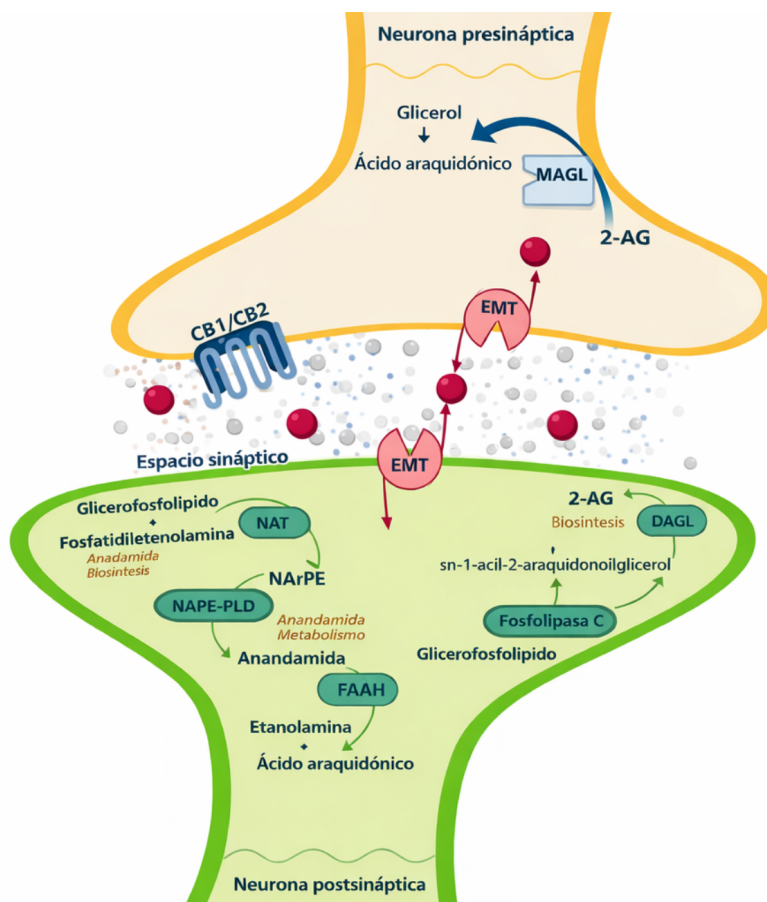


Figura 4. Representación de los componentes principales del sistema endocannabinoide, incluyendo las rutas metabólicas de los endocannabinoides. CB1/CB2, receptores cannabinoides 1 y 2; 2-AG, 2-araquidonoilglicerol; FAAH, hidrolasa de amidas de ácidos grasos; MAGL, lipasa de monoacilglicerol; DAGL, EMT: transportadores de membrana de endocannabinoides; NAT, N-acetiltransferasa; NArPE, N-araquidonil fosfatidiletanolamina; NAPE-PLD, fosfolipasa específica de N-acilfosfatidiletanolamina D; DAGL, diacilglicerol lipasa. Adaptado de [15].

Gray et al., proponen que el mecanismo de acción del CBD (Figura 5) es mediante la regulación de los niveles de Ca^{2+} intracelular a nivel neuronal, movilizándolo mediante receptores GPR55 y la entrada mediante canales TRPV1 ya que mediante esta regularización se bloquean rutas metabólicas inflamatorias. También se ha encontrado que el CBD incrementa los niveles de adenosina extracelular mediante las bombas de

adenosina ENT1, lo cual induce a rutas metabólicas antiinflamatorias mediante receptores de adenosina 1. La reducción de Ca^{2+} intracelular reduce la neuroexcitabilidad y la liberación de vesículas glutamato, que se ha observado reduce la neurotransmisión excitatoria y la actividad convulsiva [16].

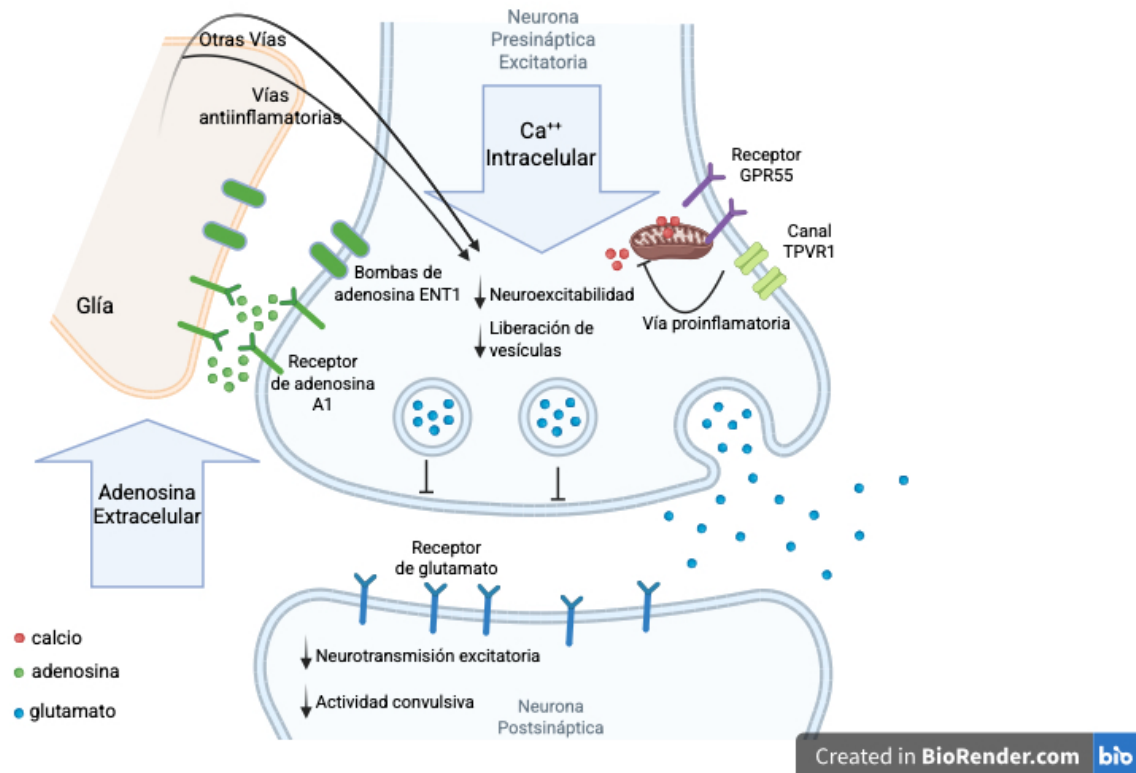


Figura 5. Mecanismo de acción del CBD en epilepsia. Adaptado de [16].

1.6.2 Metformina

Los orígenes de la metformina se remontan a la *Galega officinalis* como una planta de medicina en Europa medieval. Los beneficios que se le atribuyen son contra gusanos, epilepsia, fiebre y pestilencia en “Culpper’s Complete Herbal” de 1653. También era considerado un galactógeno para animales. El análisis químico de esta planta se remonta a los mediados de 1800, siendo esta rica en guanidina y compuestos relacionados. En 1918

se descubrió que la guanidina reduce la glucosa en sangre en animales y durante los 1920 dos derivados (la galegina y la sintalina) fueron reportados con un efecto más potente, pero se observó un efecto tóxico en ellos [17].

La metformina como tal se originó del trabajo de Adolph Strecker en la preparación de la guanidina y en el subsecuente trabajo de Bernhard Rathke en 1879 al funcionar dos guanidinas para formar una biguanidina. En 1922 Werner y Bell sintetizaron la metformina, que a pesar de sus similitudes con las mono y diguanidinas no resultó ser tan tóxicas. En la Figura 6 se presentan las estructuras de la guanidina y sus derivados, incluyendo la metformina. Sin embargo, su efecto en la glucosa sanguínea requería altas dosis en modelos no diabéticos, por lo que no fueron desarrollados en tratamientos hasta décadas más tarde gracias a Jean Stern. Stern retomó la investigación con la metformina para el tratamiento de la diabetes usando individuos tanto con diabetes juvenil como adquirida durante una edad adulta. Los resultados indicaron que la metformina podía reemplazar la insulina en algunos casos de diabetes adquirida a una edad adulta y reducir dosis de insulina requerida en otras, así como la ausencia de hipoglicemia. La metformina fue aprobada por la FDA en 1994. Actualmente la metformina es usada como tratamiento de la diabetes tipo 2, así como para tratar la prediabetes [17].

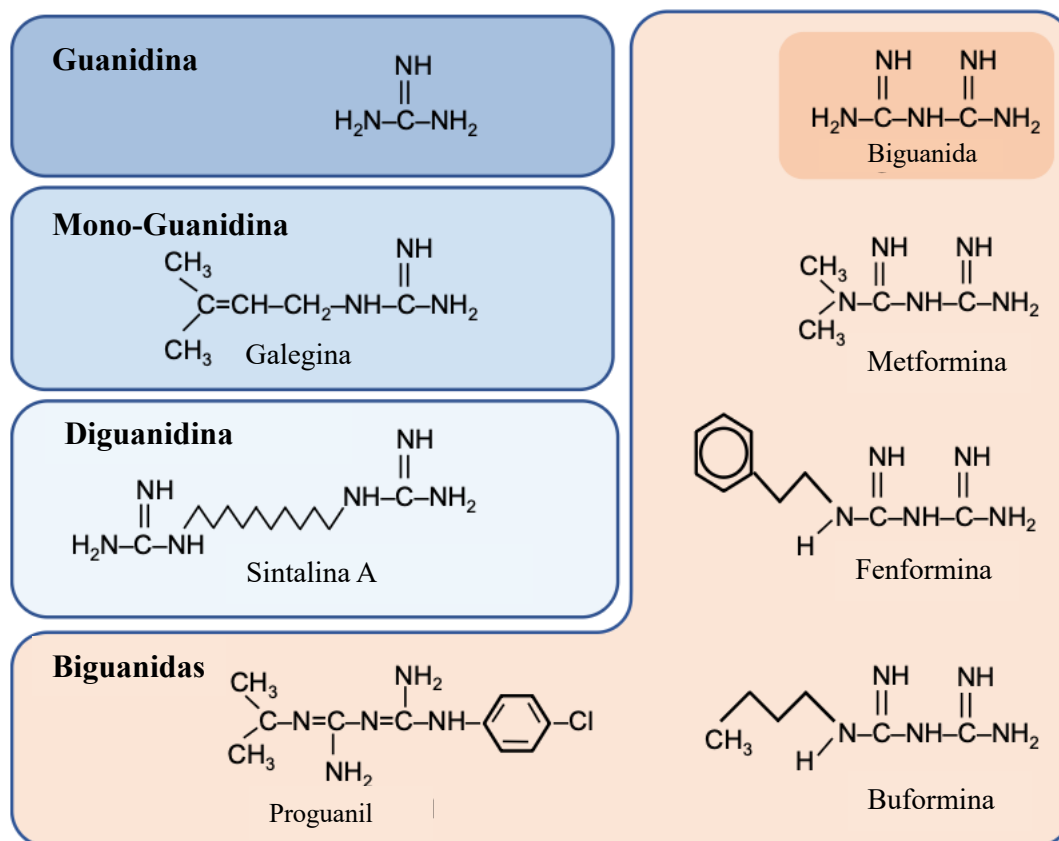


Figura 6. Estructura de la guanidina y sus derivados mono-guanidina, diguanidina y biguanidas, incluyendo la metformina. Adaptado de [17].

En 2023, Alnaaim *et al.* publicaron un estudio sobre la ruta antiepiléptica de la metformina. Encontraron que la metformina reduce el riesgo de desarrollar epilepsia en pacientes con diabetes tipo 2. Este efecto se debe a que la metformina activa la AMPK, como se observa en la Figura 7, la cual inhibe la ruta del mTOR, el cual está desregulado en la epilepsia. A su vez la AMPK induce la expresión de PCG1- α que mejora la biogénesis mitocondrial y regula al alza SIRT1 y FOXO3, quienes inducen un efecto neuro protector. Por otro lado, incrementa la absorción de glucosa y la glicólisis en astrocitos mediante el incremento de la translocación membranal de GLUT1, incrementa la progranulina y BDNF/TrkB e inhibe la síntesis de ácidos grasos e incrementa su

degradación incrementando la expresión de malonil-CoA, que inhibe la oxidación de ácidos grasos. La metformina actúa creando una cascada de señalizaciones, que tiene como consecuencia la reducción del riesgo epiléptico y la neuro protección [18].

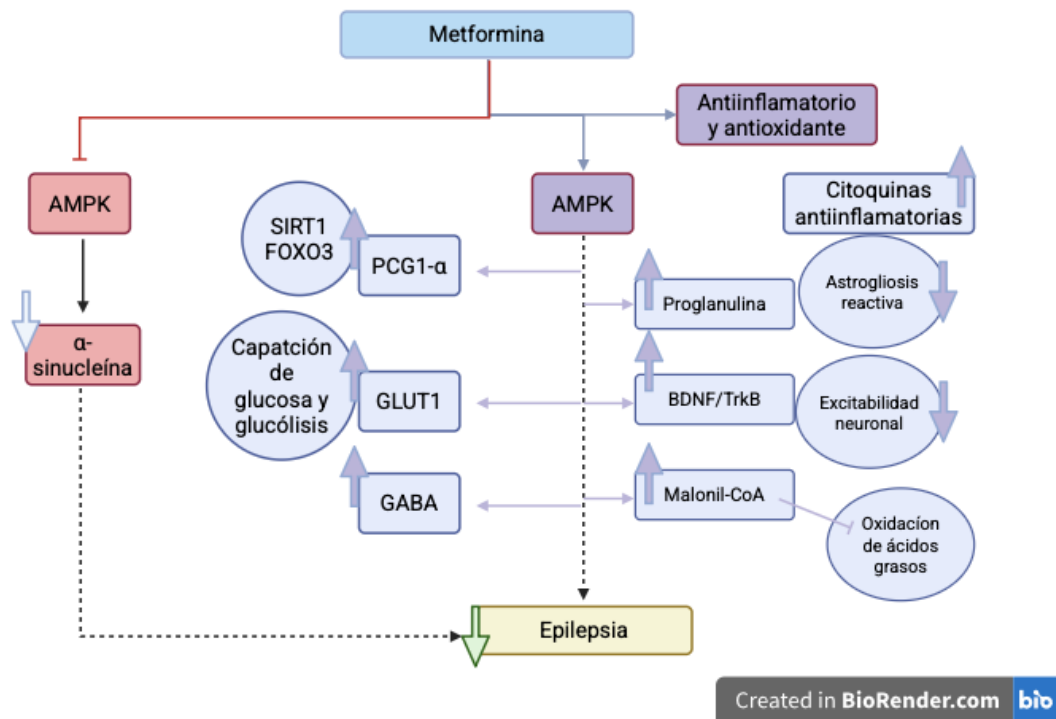


Figura 7. Mecanismos de acción antiépilépticos de la metformina. Adaptado de [18].

1.7 Reposicionamiento Farmacológico

El proceso tradicional de desarrollo de fármacos es largo y costoso, involucrando diferentes etapas como son identificación de uno o varios compuestos de interés, estudios preclínicos, estudios clínicos y finalmente todo el proceso regulatorio para su salida al mercado. Este proceso puede tomar entre 10 y 15 años; y tener costo que superan los miles de millones de dólares. Actualmente existen modelos computacionales que facilitan la selección de moléculas con potencial activo en base a su objetivo terapéutico, sin embargo, el proceso anterior mencionado sigue siendo de una duración similar [11].

Una alternativa a esto es el reposicionamiento farmacológico, el cual consiste en utilizar un fármaco que se encuentra en el mercado con un uso diferente y que se conozca tenga un efecto en las rutas metabólicas que son alteradas por la epilepsia. De esta forma el tiempo y los costos de desarrollo se reducen considerablemente [19]. Existen diferentes fármacos en el mercado que han sufrido este proceso, el caso del sildenafil, comercialmente conocido como Viagra, presentó el efecto secundario de tratar la disfunción eréctil; o el caso del minoxidil, el cual presentó el efecto secundario para tratar la alopecia [20]. Actualmente la metformina ha tomado relevancia debido a su potencial para distintos efectos.

1.8 Modelos de Kindling

Los modelos de “Kindling” son modelos animales ampliamente utilizados para el estudio de la patobiología de la epilepsia y epileptogénesis. Estos modelos exhiben características distintivas cuando un estímulo menor al que causaría un efecto severo genera la inducción de breves convulsiones focales. Con el tiempo estos estímulos van teniendo un efecto más severo hasta alcanzar un estado epiléptico total. Los modelos de “Kindling” son usados para el desarrollo de nuevos fármacos y tratamientos antiepilépticos debido a su alta validez al ser comparados con análisis clínicos. Existen cuatro modelos generales de “Kindling”: hipocampal, amigdalal, hipocampal rápido y químico. En el hipocampal, breves estímulos eléctricos son aplicados al hipocampo, este modelo provee información valiosa sobre la neurobiología de la epilepsia, la plasticidad sináptica, los sistemas neurotransmisores y las dinámicas de las redes. En modelo de Amígdala, las descargas eléctricas se aplican sobre la amígdala, y es principalmente utilizado en el estudio de los mecanismos subyacentes de la epileptogénesis, incluyendo

cambios en neurotransmisores, función de canales iónicos, y expresión genómica. En el modelo rápido, la estimulación se realiza en intervalos de 30 minutos, acelerando el proceso para hacerlo más eficiente. En este modelo se mantiene el estado entre 2 a 4 semanas y es útil para explorar cambios agudos en las redes neuronales y en las rutas moleculares durante el desarrollo de la epileptogénesis. Los métodos químicos involucran la administración de una dosis subconvulsiva de un agente químico, como el pentilenotetrazol (PTZ), que progresa gradualmente en convulsiones más severas. Este método es altamente utilizado para el desarrollo de nuevos medicamentos antiepilépticos ya que no requiere cirugía para implantar los electrodos [21].

1.8.1 Modelo PTZ “Kindling”

El PTZ es un antagonista no competitivo de los receptores GABA_A. Su unión al receptor GABA produce síntomas que se asemejan a los presentes en epilepsias grand-mal/convulsiones de ausencia, generando una despolarización de las neuronas al cerrar los canales de Cl⁻ (Figura 8). El PTZ también reduce los niveles de GABA, así como la densidad de los receptores GABA_A en diferentes partes del cerebro. Estos cambios combinados resultan en la estimulación de las neuronas corticales, lo que lleva a convulsiones, sus efectos en este uso suelen durar menos de 20 minutos y sus efectos pueden ser detenidos por agonistas de receptores GABA, antagonistas de receptores NMDA y moduladores metabólicos como el CBD y la metformina [22].

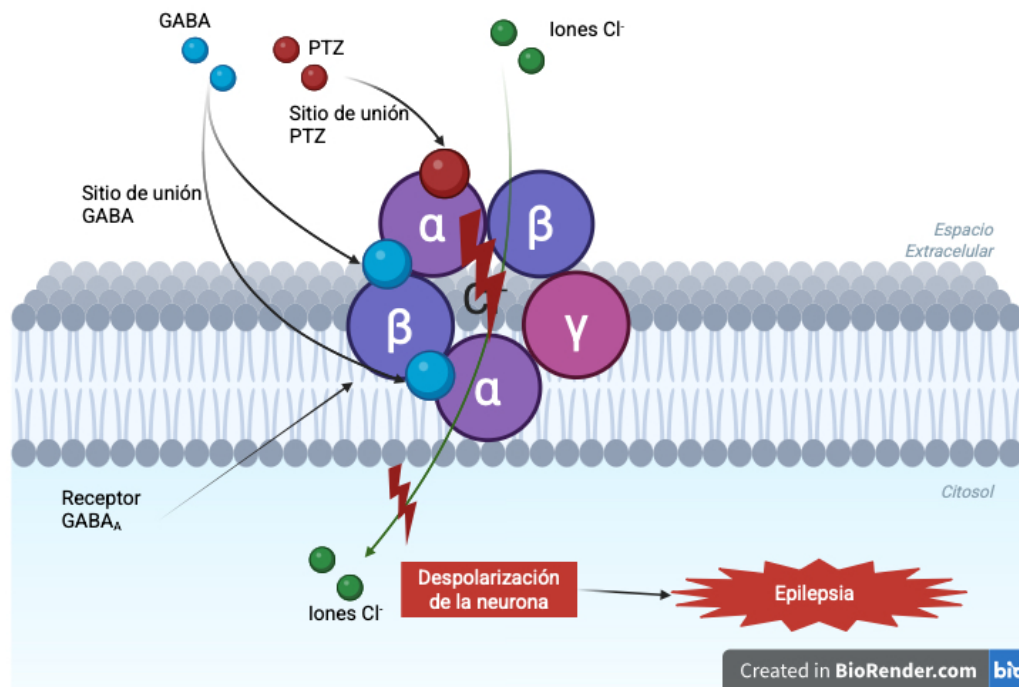


Figura 8. Mecanismo del PTZ en la inducción de convulsiones. Adaptado de [22].

2. JUSTIFICACIÓN

Debido a la alta cantidad de personas que padecen de epilepsia, presentan alguna enfermedad que presenta convulsiones entre sus síntomas, como el síndrome de West, Lennox-Gastaut, Doose, Touret; o presentan farmacorresistencia el desarrollo de opciones nuevas de tratamiento es fundamental para mejorar la calidad de vida de estos pacientes. Tanto el cannabidiol (CBD) como la metformina han sido estudiados por sus propiedades antiepilépticas por separado, observando resultados favorables en estudios tanto agudos como crónicos. Al estos presentar mecanismos de acción diferentes, se espera que administrados en conjunto su actividad pueda verse mejorada, que de forma individual. Es por esto por lo que en este proyecto se evaluó el potencial anticonvulsivo de la combinación CBD-Metformina en un modelo murino de convulsiones crónicas.

3. ANTECEDENTES

3.1 CBD como anticonvulsivo

En 2018, Friedman *et al* realizaron un estudio en ratas juveniles mediante administración intrahipocampal de ácido kaínico (KA) y CBD. Mediante cirugía a las ratas en el día 18 posterior al nacimiento (P18), se les implantó una cánula/electrodo en el hipocampo derecho. Al día 20 posterior al nacimiento (P20) se separaron en 2 grupos control (vehículo, i.h./i.p.), KA (5 uM, i.h.), KA + CBD (5 uM, 3.18 uM, i.h.), KA seguido de CBD 30 minutos después (5 uM, 3.18 uM, i.h.), KA intraperitoneal (7 mg/kg, i.p.), KA + CBD intraperitoneal (7 mg/kg, 10 mg/kg, i.p.) y KA seguido de CBD después de observar síntomas (7 mg/kg, CBD 8-4 mg/kg, i.p.) y solo CBD (10 mg/kg, i.p.). A P20, no se observó un cambio en el comportamiento con la administración de CBD (4-10 mg/kg). Las ratas en las que el KA fue administrado vía i.h. presentaron efectos de hiperactividad por 1- 2 minutos seguido de un periodo de sueño previo a la observación de convulsiones. Se observó que el efecto del KA ocurre más rápido vía i.h. que al administrarse vía i.p., sin embargo, mantiene el mismo efecto en el comportamiento. La coadministración con CBD redujo la severidad de las convulsiones. La administración conjunta con CBD vía i.h. después de que se alcanzó una etapa avanzada de convulsiones logro calmarlas rápidamente. La coadministración de KA y CBD vía i.p. atenuó las convulsiones inducidas por el KA, sin embargo, los síntomas reaparecieron a las 2 horas. La administración de CBD vía i.p. posterior a la presencia de las convulsiones no obtuvo una atenuación significativa. En la Figura 9 podemos observar la intensidad de las convulsiones en cada grupo. Los autores concluyeron que el CBD presenta un efecto

atenuante en las convulsiones, principalmente durante la formación de estas, pero debido a que los efectos del CBD en los cerebros juveniles no está estudiado, se requiere más investigación para determinar su seguridad y eficacia [23].

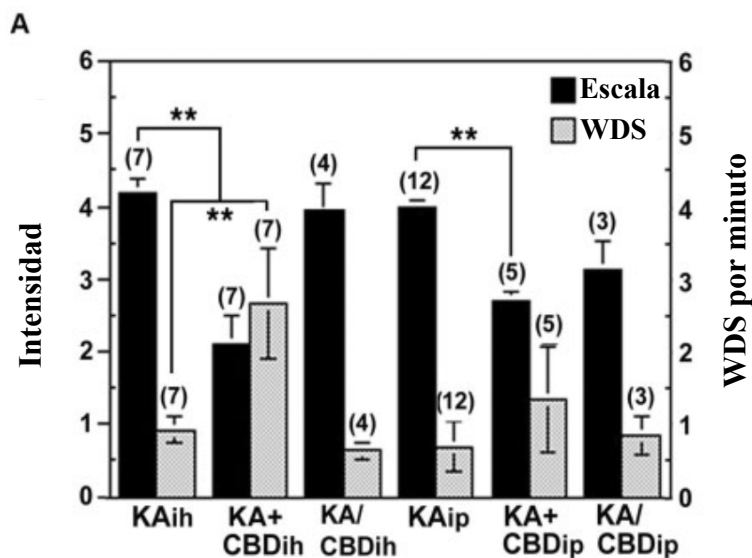


Figura 9. Intensidad de las convulsiones en los diferentes grupos y la frecuencia de sacudidas de perro mojado (WDS). (** $p < 0.01$). Adaptado de [23].

En 2019, Patel *et al* realizaron un modelo con ratones infectados por la cepa Daniels del virus de encefalomiелitis murina de Thelie (DA-TMEV) en ratones. Los ratones fueron infectados mediante inyección intracortical en el hemisferio derecho con una solución 2×10^5 unidades formadoras de placas (PFU). Las convulsiones fueron inducidas agitando brevemente la jaula y las convulsiones fueron monitoreadas 4 veces al día entre dos y 4 días, la intensidad fue medida usando la escala de Racine. El CBD fue administrado vía i.p. a una dosis de 180 mg/kg cada 12 horas por 10 días, iniciando dos días previos a la infección. Se observó una disminución en la frecuencia y severidad en el grupo que recibió el tratamiento de CBD a partir del cuarto día post infección. En la Figura 10 se observa la severidad de las convulsiones en ambos grupos. Se concluyó que la dosis de 180 mg/kg tuvo un efecto en la reducción de la frecuencia e intensidad de las

convulsiones inducidas por el TMEV, también se identificó que el pico de eficiencia del CBD es a las horas posteriores a su administración [24].

Grupo	Ratón	Intensidad																							
		3 dpi				4 dpi				5 dpi				6 dpi				7 dpi				8 dpi			
		DI	AM	PM	DI	DI	AM	PM	DI	DI	AM	PM	DI	DI	AM	PM	DI	DI	AM	PM	DI	AM	PM		
Control	1				3	3			3	4	4			5		6			5	6					
	2	3	3	3	3					3			4	6		6			5			5			
	3									4	4	4		4		6			5			5			
	4			3						3			4	5	4			4		5	5				
	5			3	3							3	4	5		5			5	5					
	6					3	3					4				5			5			6			
	7									3			3		5										
	8		3		3									3	5										
	9	3	3				3								5	4			5		5	5			
	10					3	4	3						4	6			6		4	6				
CBD	11																		5						
	12																								
	13								3	3				5								5			
	14																								
	15													5								5			
	16																								
	17							3		4				4							5				
	18																3								
	19						3	3								4									
	20																								

Figura 10. Intensidad de las convulsiones en los grupos sin y con tratamiento. dpi, días post infección; DI, durante la administración; AM y PM, 4 y 9 horas posteriores a la administración del CBD en la mañana. Adaptado de [24].

Además, Patra *et al* realizaron un estudio para analizar los efectos del CBD en estado epiléptico inducido por pilocarpina en ratas. Las ratas recibieron tratamiento con CBD (10 mg/kg,) o su vehículo vía intravenosa 1 hora antes de administrar 380 mg/kg de pilocarpina vía i.p. Un tercer grupo recibió como tratamiento fenobarbital (30 mg/kg). 30 minutos antes de la administración de pilocarpina se administró metilo de escopolamina para evitar efectos periféricos. Se observó que esta dosis atenuó significativamente la severidad máxima de las convulsiones comparado con el grupo sin tratamiento. En la Figura 11 se presentan los resultados de la severidad de las convulsiones tanto del CBD como del fenobarbital. Concluyeron que el CBD es un potencial agente antiepiléptico al reducir la intensidad de las crisis convulsivas [25].

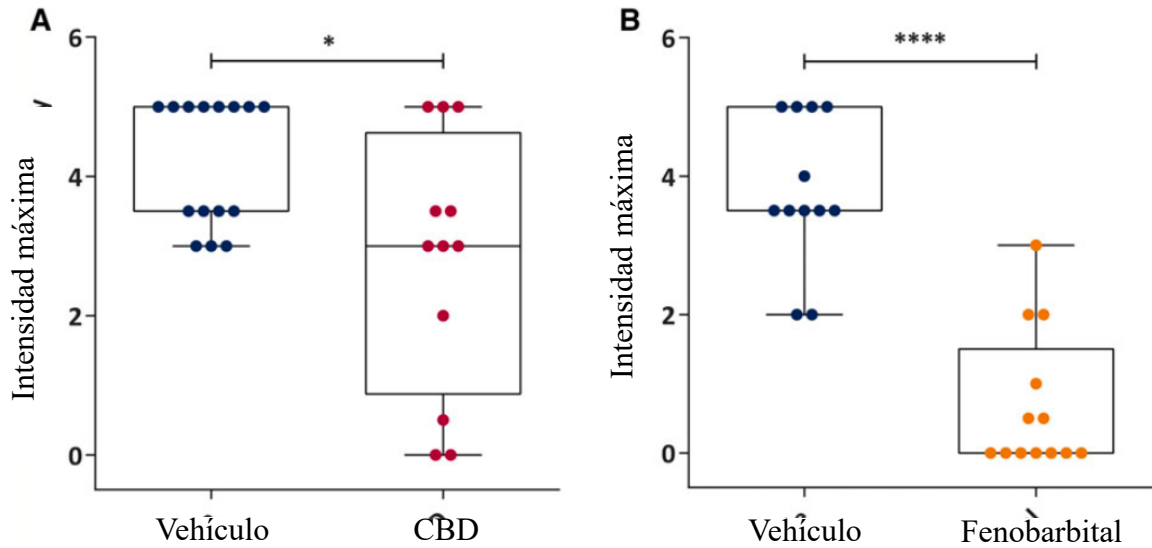


Figura 11. Efecto del CBD y fenobarbital sobre la severidad de las convulsiones inducidas por pilocarpina. (* $p < 0.05$, **** $p < 0.0001$). Reimpreso de [25].

3.2 Metformina como anticonvulsivo

Zhao *et al*, realizaron un modelo de “Kindling” usando PTZ. Usando ratones adultos, divididos en cuatro grupos, un control, un grupo al que solo le administraron metformina, un grupo de PTZ y un grupo de PTZ+metformina, administrando el PTZ en días alternos por 28 días. Utilizaron dosis subconvulsivas de PTZ (37 mg/kg, ip) y de metformina usaron dosis de 200 mg/kg, ip, 30 minutos antes del PTZ. Hicieron observación durante 30 minutos y midieron la respuesta usando la escala de Racine modificada. En sus resultados observaron un gradual incremento en el puntaje de la escala por parte del grupo PTZ, mientras que el grupo que recibió el pretratamiento de metformina tuvo un puntaje menor en comparación con el grupo PTZ, siendo estas significativas desde la octava administración de PTZ, en la Figura 12 se puede observar estos resultados de

manera gráfica. La conclusión a la que llegaron fue que la metformina resultó en una reducción del puntaje en la escala de Racine, demostrando actividad anticonvulsiva [26].

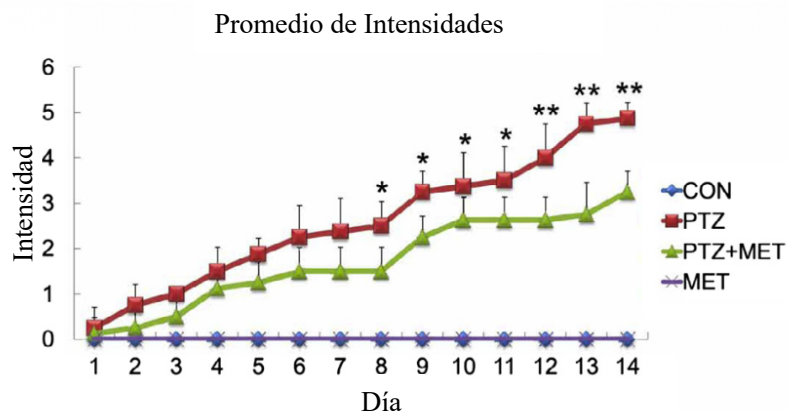


Figura 12. Efecto de la metformina en el tratamiento de las convulsiones. Valores son promedios $\pm$ SD. (* $p < 0.05$, ** $p < 0.005$). Adaptado de [26].

De igual manera, Mehrabi *et al*, realizaron un modelo de estado epiléptico con pilocarpina para determinar los efectos protectores de la metformina en ratas. El estado epiléptico fue inducido mediante inyección de hidrocloreuro de pilocarpina (360 mg/kg, i.p) pretratados con nitrato de metilo de escopolamina (1 mg/kg, i.p) para reducir efectos colinérgicos periféricos. Las ratas fueron observadas por varias horas y sus respuestas fueron evaluadas con la escala de Racine, las ratas que presentaron visible estado epiléptico por 3-4 horas fueron seleccionadas y monitoreadas por dos semanas para observar convulsiones espontáneas. 45 días después de la inducción del estado epiléptico se dividieron en 3 grupos de 6 ratas: el grupo control recibió vehículo, el grupo epiléptico recibió pilocarpina como se describió previamente, el grupo de tratamiento recibió metformina (250 mg/kg/día, i.p) por 5 días. Semana después fueron evaluadas en diferentes pruebas de hiperexcitabilidad. Se observó una reducción en la respuesta de las ratas que recibieron la metformina en comparación con las que recibieron la pilocarpina (Figura 13). Llegaron a la conclusión de que la metformina ayuda a controlar la

sensibilidad a los estímulos ambientales generados por el estado epiléptico, por lo que podría considerarse un potencial agente terapéutico contra la epilepsia [27].

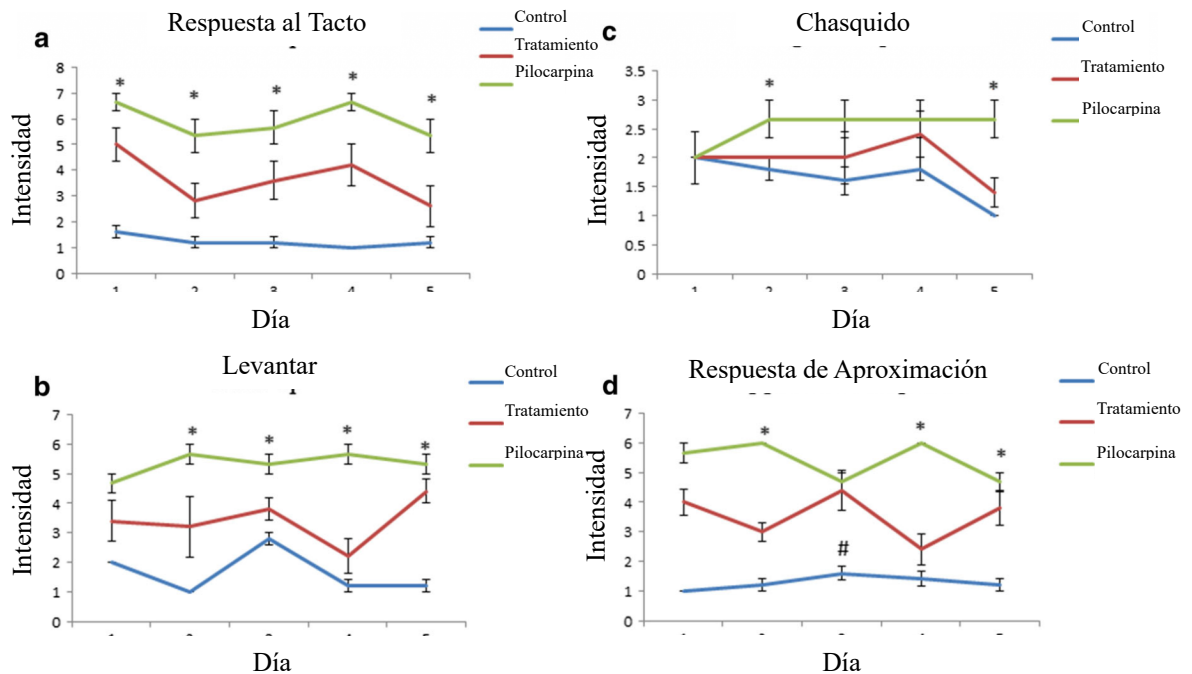


Figura 13. Respuesta a las pruebas de estímulo. a) Respuesta al tacto, b) levantar, c) chasquido de dedos, d) respuesta aproximación. (* $p < 0.05$ con respecto al control, # $p < 0.05$ con respecto al tratamiento). Adaptado de [27].

Por su parte, Hussein et al, realizaron un modelo de “Kindling” con PTZ en ratas macho. Utilizaron 4 grupos de 10 ratas las cuales fueron tratadas de la siguiente forma: Grupo normal, recibieron solución salina (i.p) por 14 días; Grupo metformina normal recibieron el pretratamiento de metformina (200 mg/kg, i.p) diario por 14 días; Grupo PTZ recibió PTZ (50 mg/kg, i.p) en días alternados por 14 días; Grupo metformina+PTZ, el mismo tratamiento que el grupo de PTZ, pero recibiendo pretratamiento con metformina (200 mg/kg, i.p.) por 14 días, la metformina se administró 30 min antes del PTZ. Las ratas fueron observadas por 30 minutos después de la administración del PTZ y la severidad de las convulsiones fue medida usando la escala de Racine. Observaron que con la metformina se redujo la intensidad de las convulsiones en las dos últimas pruebas, y en

comparación con el grupo PTZ una disminución significativa. De igual manera observaron que la latencia de inicio de las convulsiones se incrementó de forma significativa en comparación del grupo PTZ, a excepción de los días 2 y 4. La duración de las convulsiones también se vio reducida significativamente en comparación con el grupo PTZ. En las Tablas 2, 3 y 4 se muestran los resultados de las intensidades, latencias y duraciones. Concluyeron que la metformina posee propiedades antiepilépticas en un modelo de epilepsia inducido por PTZ en ratas [28].

Tabla II. Intensidad de las convulsiones. Recreado de [28].

Día	1	2	3	4	5	6	7	Valor p
PTZ								
Media	2	3	4	4	4.5	5	4.5	
Mínimo	1	0	2	3	3	3	3	<0.001
Máximo	3	5	5	5	5	5	5	
Metf+PTZ								
Media	0	2	2	2	2.5	2	2	
Mínimo	0	1	1	0	0	0	0	<0.001
Máximo	0	3	4	3	3	4	2	
Valor p	<0.001	<0.001	<0.001	0.001	0.001	0.001	0.003	

Tabla III. Latencia de las convulsiones. Recreado de [28].

Día	1	2	3	4	5	6	7
PTZ	193.33+	1108.12+	77.00+	115.56+	51.67+	57.85+	50.67+
	42.42	37.88	25.88	30.04	11.69	31.61	7.51
Metf+PTZ	0.0+	142.22+	143.33+	131.25+	810+	197.78+	137.7+
	00.00	37.34	27.83	52.76	43.35	20.9	37.27
Valor p	<0.001	0.82	0.001	0.456	<0.001	0.01	0.01

Tabla IV. Duración de las convulsiones. Recreado de [28].

Día	1	2	3	4	5	6	7
PTZ	12.42+	208.67+	131.20+	46.67+	97.83+	126.71+	131.17+
	2.76	31.7	11.05	13.67	34.70	34.28	35.27
Metf+PTZ	0.0+	14.67+	24.67+	37.50+	42.71+	58.89+	44.44+
	00.00	3.93	10.41	16.67	20.89	10.49	13.27
Valor p	<0.001	<0.001	<0.001	0.09	0.005	<0.001	0.004

3.3 Modelos PTZ

En 2012, Ramos-Morales *et al.* realizaron un estudio sobre los modelos de PTZ como un screening primario para el desarrollo de fármacos anticonvulsivos. Se encontró que administrando una dosis baja de PTZ (25-40 mg/kg) de manera crónica o una dosis única

de PTZ (≥ 50 mg/kg) inducen las crisis convulsivas, sin embargo, este método tiene la limitante de que no permite la diferenciación entre los fármacos efectivos para tónico-clónicas y para las de crisis de ausencia. A pesar de esta limitante los modelos de PTZ resultan útiles como un primer screening de potenciales fármacos anticonvulsivos [29].

En 2012, Dhir propone un modelo de PTZ “Kindling” para la evaluación de fármacos con potencial actividad anticonvulsiva. Menciona que los modelos de “Kindling” químico son los más utilizados por su facilidad y rapidez comparado con el “Kindling” eléctrico, ya que no requiere de cirugía cerebral o la implantación de electrodos, y que de los modelos químicos el de PTZ es el más aceptado para el estudio de los efectos de fármacos antiepilépticos. Para el efecto de “Kindling” se utilizan dosis subclínicas de PTZ (20 a 40 mg/kg) de forma repetida. Debido a su facilidad e implementación los modelos químicos tienen ventajas prácticas sobre los eléctricos, y de estos el modelo de PTZ es el más utilizado y aceptado [30].

4. APORTACIÓN CIENTÍFICA

Desarrollar el modelo de convulsiones crónicas y evaluar el efecto de la combinación de cannabidiol con metformina para prevenir o reducir las convulsiones, y que sirva como base para el desarrollo de mejores tratamientos contra la epilepsia.

5. HIPÓTESIS

La combinación de cannabidiol con metformina disminuirá la duración y/o la intensidad de las crisis convulsivas en un modelo murino de convulsiones crónicas, en comparación de los compuestos evaluados por separado.

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo General

Determinar el efecto anticonvulsivo de la combinación cannabidiol-metformina en la prevención de convulsiones en un modelo murino de convulsiones crónicas.

6.2 Objetivos específicos

1. Evaluar el efecto anticonvulsivo de la combinación del cannabidiol-metformina en ratas Wistar macho en un modelo de convulsiones crónicas
2. Realizar pruebas para evaluar la función hepática.

7. METODOLOGÍA

7.1 Materiales.

Agitadores magnéticos, puntillas de 10-100 µl, 20-200 µl y de 100-1000µl, pipetas lineales de 5 ml (desechables), tubos cónicos 50 y 100 ml (Corning Costar, México, D.F.), vasos de precipitado de diferentes capacidades (PYREX), jeringas y agujas (BD), sistema de purificación de agua Simplicity UV (Millipore), tubos Falcon 15 y 50 ml (Corning), pipetas vera, pinzas de distintos usos, batas de laboratorio, guantes.

7.2 Reactivos.

Ácido clorhídrico, agua destilada, alcohol etílico, cloruro de potasio CP170126-01 (DEQ), cloruro de sodio 561-1 (DEQ), dimetilsulfóxido D4540 (Sigma-Aldrich), dodecil sulfato de sodio DSS170126-01 (DEQ), fosfato de potasio dibásico anhidro FPDA170126-01 (DEQ), fosfato de sodio dibásico anhidro FSDA170126-01 (DEQ). Formol, solución salina, CBD (RHOIL), metformina, PTZ, midazolam.

7.3 Equipo.

Agitador / Placa de calentamiento (Corning), balanza analítica HR200 (AND), ultracongelador horizontal -80°C HERA FREEZE HFC series (Thermo-Fisher), Instrumento estereotáxico (Stoelting Co.), equipo de disección.

7.4 Experimental.

7.4.1 Modelo PTZ.

El modelo que se utilizó está basado en modelo planteado por Dhir *et al.* [30] para evaluar las propiedades anticonvulsivas de uno o varios fármacos de forma crónica, en contraste con un modelo de convulsiones agudas, en este modelo la dosis de PTZ no genera convulsiones con una sola dosis. Las ratas que se emplearon para el modelo son Wistar, en un rango de peso de 200 a 350 g. Se siguió tanto la Norma Mexicana NOM-062-ZOO-1999 como las normas internas de la Facultad de Medicina de la UANL para el trato ético.

Se hicieron siete grupos de cuatro ratas cada uno. En la tabla 5 se presentan los diferentes grupos, las dosis, vías de administración y los tiempos. El procedimiento general fue el siguiente: a los grupos de control negativo se les administró el CBD, la metformina o la combinación de forma diaria. Al grupo de control negativo se le administró el PTZ en días alternos y se monitorearon por 30 minutos y se realizaron grabaciones para su análisis. A los grupos de estudio se les administró los tratamientos de CBD, metformina o la combinación de forma diaria y el PTZ en días alternos, monitoreando por 30 minutos después de la administración del PTZ y grabando para su análisis posterior. Se realizó también un grupo al cual no se administró ningún tratamiento. El peso de todos los grupos fue monitoreado de manera continua para la correcta administración de las dosis y para cualquier cambio posible de salud. Una vez completadas las fases, los grupos fueron sacrificados por inyección de midazolam y dislocamiento

cervical. Se tomaron muestras de sangre y cerebro para su análisis. A la sangre se le realizaron pruebas bioquímicas para marcadores para daño hepático.

Tabla V. Grupos, Tratamientos, Dosis, Tiempos y Vía de Administración.

Grupo	Tratamiento	Dosis	Tiempos	Vía de Administración
Control	-	-	-	-
PTZ	PTZ	25 mg/kg	-	IP
CBD Control	CBD	60 mg/kg	-	Oral
Metformina Control	Metformina	200 mg/kg	-	IP
CBD-Metformina Control	CBD, Metformina	CBD: 60mg/kg Metformina:200 mg/kg	-	CBD: Oral Metformina: IP
CBD	CBD, PTZ	CBD: 60mg/kg PTZ: 25 mg/kg	CBD 2 horas antes del PTZ	CBD: Oral PTZ: IP
Metformina	Metformina, PTZ	Metformina:200 mg/kg PTZ: 25mg/kg	Metformina 0.5 horas antes del PTZ	Metformina, PTZ: IP
CBD-Metformina	CBD, Metformina, PTZ	CBD: 60mg/kg Metformina:200 mg/kg PTZ: 25mg/kg	CBD 2 horas antes del PTZ, Metformina 0.5 horas antes del PTZ	CBD: Oral Metformina, PTZ: IP

Para determinar la intensidad de las crisis se utilizó la escala modificada de Racine (Apéndice 1).

7.4.2 Toma de Muestras de Sangre y Sacrificio

La toma de sangre se llevo a cabo una vez concluidos los 14 días del estudio. Cada rata fue sedada administrando midazolam. Una vez se encontrara sedada se realizo la toma de sangre del corazon. Posterior a la toma de sangre se realizo el sacrificio mediante dislocación cervical de a cuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-062-Z00-1999. Se realizo la toma de cerebros posterior al sacrificio para futuros estudios.

7.4.3 Pruebas Bioquimicas para Marcadores de Daño Hepático.

Las muestras de sangre tomadas se enviaron a analizar a un laboratorio externo para los siguientes marcadores de daño hepático: alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), fosfatasa alcalina, proteínas totales, albumina y globulina.

7.4.4 Manejo de Residuos

Los residuos se manejaron de acuerdo con los lineamientos del departamento de farmacología y toxicología de la facultad de medicina de la universidad autónoma de Nuevo León.

7.4.5 Estadística.

La estadística se llevó a cabo utilizando el lenguaje de programación estadístico R y el software RStudio. Los resultados de intensidad y latencia se compararon mediante pruebas t entre los grupos en cada día. Los resultados de duración se compararon mediante prueba U de Mann-Whitney entre los grupos de cada día. Los resultados de ALT y Fosfatasas alcalinas se analizaron usando ANOVA. Los resultados de Proteínas totales se analizaron

usando Welch's ANOVA. Los resultados de AST, Albúmina y Globulina se realizaron mediante Kruskal-Wallis.

8. RESULTADOS.

8.1 Modelo “Kindling” PTZ.

Los resultados de están divididos en los parámetros que se analizaron durante el estudio: Intensidad de las crisis convulsivas conforme a la escala modificada de Racine mencionada en la metodología; latencia, es decir el tiempo entre la administración del PTZ a la observación de algún tipo de crisis y la duración de las crisis.

8.1.1 Intensidad.

En la Tabla 6 se presentan los resultados de las intensidades de las convulsiones observadas en cada rata en base de la escala modificada de Racine, observándose mayores intensidades en el grupo sin tratamiento.

Tabla VI. Intensidades de los diferentes grupos del modelo murino “Kindling” en base a la escala modificada de Racine.

Grupo	Día 1	Día 3	Día 5	Día 7	Día 9	Día 11	Día 13	Día 15
PTZ	0	0	0	3	3	3	3	3
PTZ	0	6	3	5	6	6	6	6
PTZ	0	0	3	6	6	6	6	6
CBD	0	0	0	0	0	0	0	0
CBD	0	0	0	0	0	0	0	0
CBD	0	0	0	0	3	3	3	3
CBD	0	0	0	0	0	0	0	0
Met	0	0	0	0	0	3	0	0
Met	0	0	0	0	0	0	3	3
Met	0	0	0	0	3	3	3	3
Met	0	0	0	0	0	2	0	0
CBD-Met	0	0	0	0	0	0	0	0
CBD-Met	0	2	3	3	3	3	3	3
CBD-Met	0	0	0	0	0	0	0	0

En la Tabla 7 se presenta el porcentaje de sujetos afectados por grupo, donde podemos observar que hubo una disminución en los grupos de CBD y de la combinación, en comparación con el grupo PTZ. En la misma tabla se presentan los promedios de todas las intensidades mayores a 0 observadas y se puede ver una disminución de las intensidades de todos los grupos en comparación con el grupo PTZ.

Tabla VII. Número de individuos afectados por grupo y la intensidad promedio de las crisis sufridas por grupo.

Grupo	Sujetos afectados por grupo	Promedio de intensidades en el grupo	SD
PTZ	100%	4.8	1.5
CBD	50%	3	0
Met	100%	2.9	0.4
CBD-Met	33%	2.9	0.4

En la Figura 14 se presenta los promedios de las intensidades de cada grupo por día de administración de PTZ, observándose diferencia significativa de los grupos CBD y CBD-metformina con el grupo PTZ a partir del día 9, y del grupo metformina con el grupo PTZ únicamente el día 9.

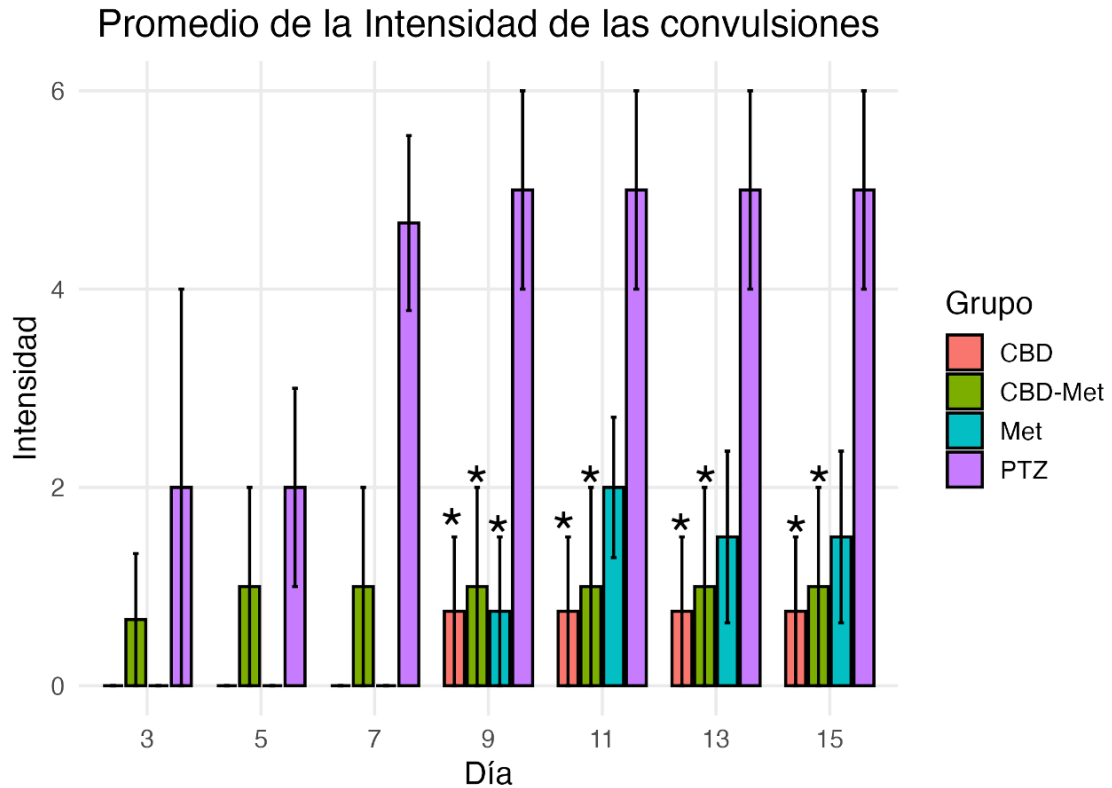


Figura 14. Gráfica de barras de la intensidad promedio observada por cada grupo en los diferentes días. (* $p < 0.05$ comparado con el grupo PTZ).

8.1.2 Latencia.

Se midió el tiempo entre la administración de la dosis de PTZ y la primera observación de inicio de una crisis. En la Tabla 8 se presentan las latencias observadas en segundos, junto con la intensidad observada en cada caso, observándose un incremento en esta en los grupos con tratamiento, siendo el grupo que recibió la metformina el que presentó un mayor incremento.

Tabla VIII. Latencia de los diferentes grupos del modelo murino “Kindling” con su respectiva intensidad. L, latencia; I, intensidad; los valores de latencia están en segundos y la intensidad es en base a la escala de Racine modificada.

Grupo	Día 1		Día 3		Día 5		Día 7		Día 9		Día 11		Día 13		Día 15	
	L	I	L	I	L	I	L	I	L	I	L	I	L	I	L	I
PTZ	0	0	0	0	0	0	92	3	42	3	117	3	117	3	117	3
PTZ	0	0	170	6	79	3	125	5	170	6	170	6	170	6	170	6
PTZ	0	0	0	0	150	3	79	6	79	6	79	6	79	6	79	6
CBD	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CBD	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CBD	0	0	0	0	0	0	0	0	125	3	305	3	122	3	122	3
CBD	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Met	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	439	3	0	0	0	0
Met	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	357	3	1331	3
Met	0	0	0	0	0	0	0	0	602	3	117	3	1085	3	1085	3
Met	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	176	2	0	0	0	0
CBD-Met	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CBD-Met	0	0	152	2	235	3	168	3	168	3	168	3	168	3	168	3
CBD-Met	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

En la Tabla 9 se presentan los promedios de las latencias en donde se presentaron crisis, observándose un incremento en las latencias de los grupos con tratamiento, principalmente del grupo metformina, en comparación con el grupo PTZ.

Tabla IX. Promedio de las latencias en cada grupo en segundos.

Grupo	Promedio de latencias en el grupo (s)	SD
PTZ	115.8	42.1
CBD	168.5	91.0
Met	649.0	460.4
CBD-Met	175.3	66.8

En la Figura 15 se muestran los promedios de las latencias en los grupos durante cada día que se administró el PTZ, no se observó diferencia estadística significativa entre los grupos.

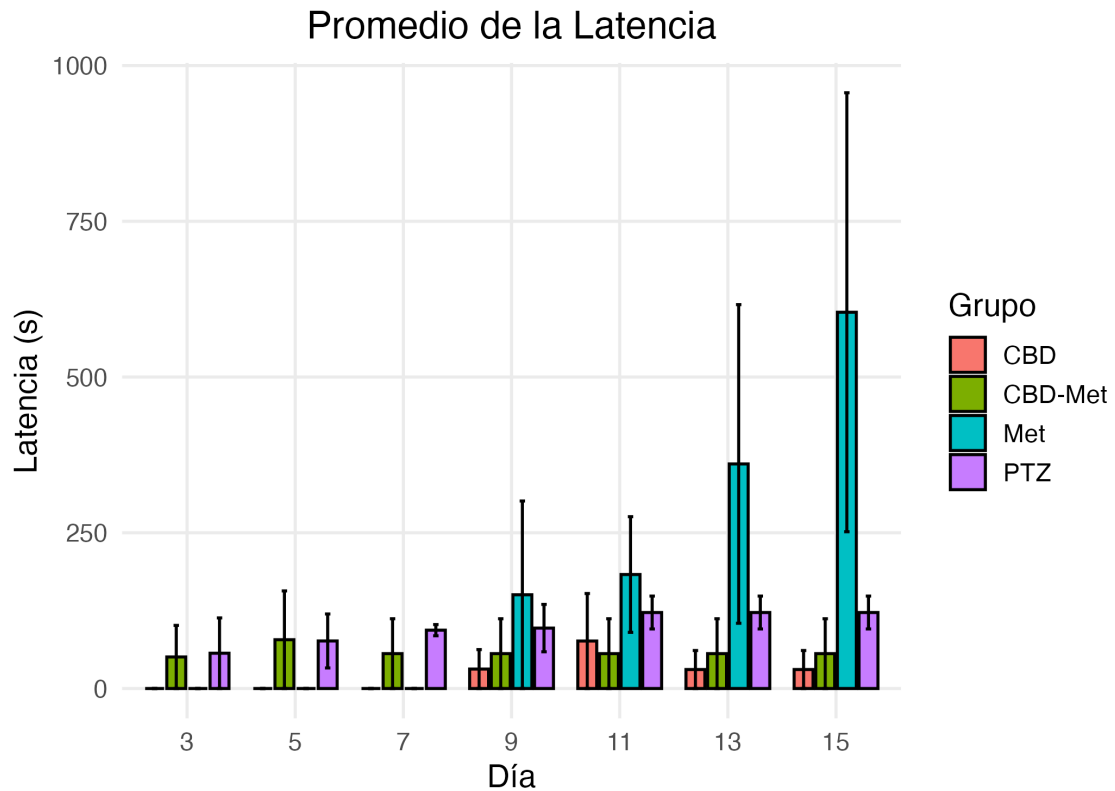


Figura 15. Gráfica de barras de la Latencia de los diferentes Grupos en segundos.

8.1.3 Duración

La duración se midió desde el momento en que se observó el primer indicio de una crisis hasta que la crisis y subsecuentes crisis durante el tiempo de monitoreo pararon. En la Tabla 10 se presentan las duraciones de las crisis observadas en los diferentes grupos, junto con la intensidad de cada una, observándose una menor duración el grupo que no recibió tratamiento.

Tabla X. Duración de las convulsiones de los diferentes grupos del modelo murino “Kindling” con su respectiva intensidad. D, duración; I, intensidad; los valores de duración están en segundos y la intensidad es en base a la escala de Racine modificada.

Grupo	Día 1		Día 3		Día 5		Día 7		Día 9		Día 11		Día 13		Día 15	
	D	I	D	I	D	I	D	I	D	I	D	I	D	I	D	I
PTZ	0	0	0	0	0	0	453	3	533	3	437	3	437	3	437	3
PTZ	0	0	35	6	298	3	135	5	35	6	35	6	35	6	35	6
PTZ	0	0	0	0	230	3	382	6	382	6	382	6	382	6	382	6
CBD	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CBD	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CBD	0	0	0	0	0	0	0	0	486	3	1495	3	1678	3	1678	3
CBD	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Met	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	578	3	0	0	0	0
Met	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1278	3	461	3
Met	0	0	0	0	0	0	0	0	1198	3	448	3	448	3	448	3
Met	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	176	2	0	0	0	0
CBD-Met	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CBD-Met	0	0	697	2	1565	3	1215	3	1215	3	1215	3	1215	3	1215	3
CBD-Met	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

En la Tabla 11, por su parte, se observan las duraciones promedio de las crisis sufridas por cada grupo, teniendo una duración promedio menor en los grupos que no recibieron tratamiento.

Tabla XI Promedio de la duración de las convulsiones en cada grupo en segundos.

Grupo	Promedio de las duraciones por grupo (s)	SD
PTZ	280.3	178.9
CBD	1334.3	572.0
Met	629.4	392.7
CBD-Met	1191	482.3

En la Figura 16 se muestran los promedios de las duraciones de cada grupo en cada día de administración del PTZ, no se observó diferencia significativa entre los grupos.

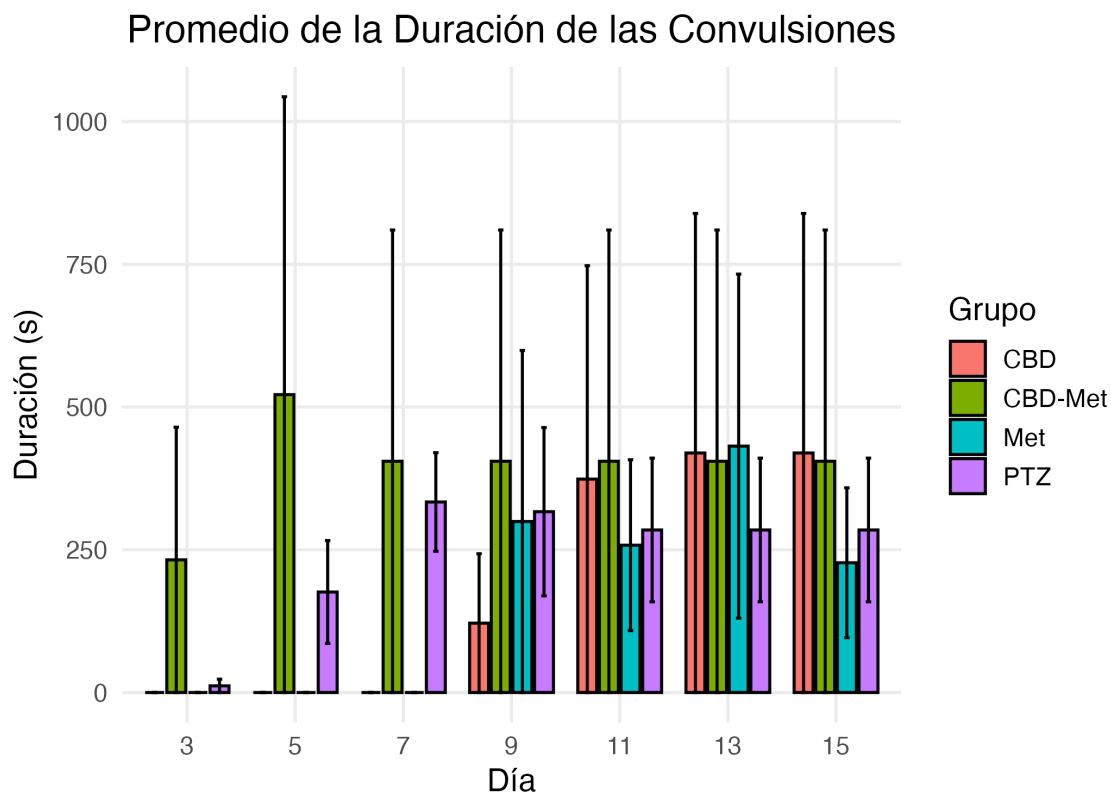


Figura 16. Grafica de barras de la duración de las convulsiones de los diferentes Grupos en segundos.

8.2 Pruebas Bioquímicas Para Daño Hepático

Se realizaron pruebas en sangre de los siguientes marcadores bioquímicos: alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), fosfatasa alcalina, proteínas totales, albumina y globulina. En las Figura 17 se presentan los promedios de cada uno de estos.

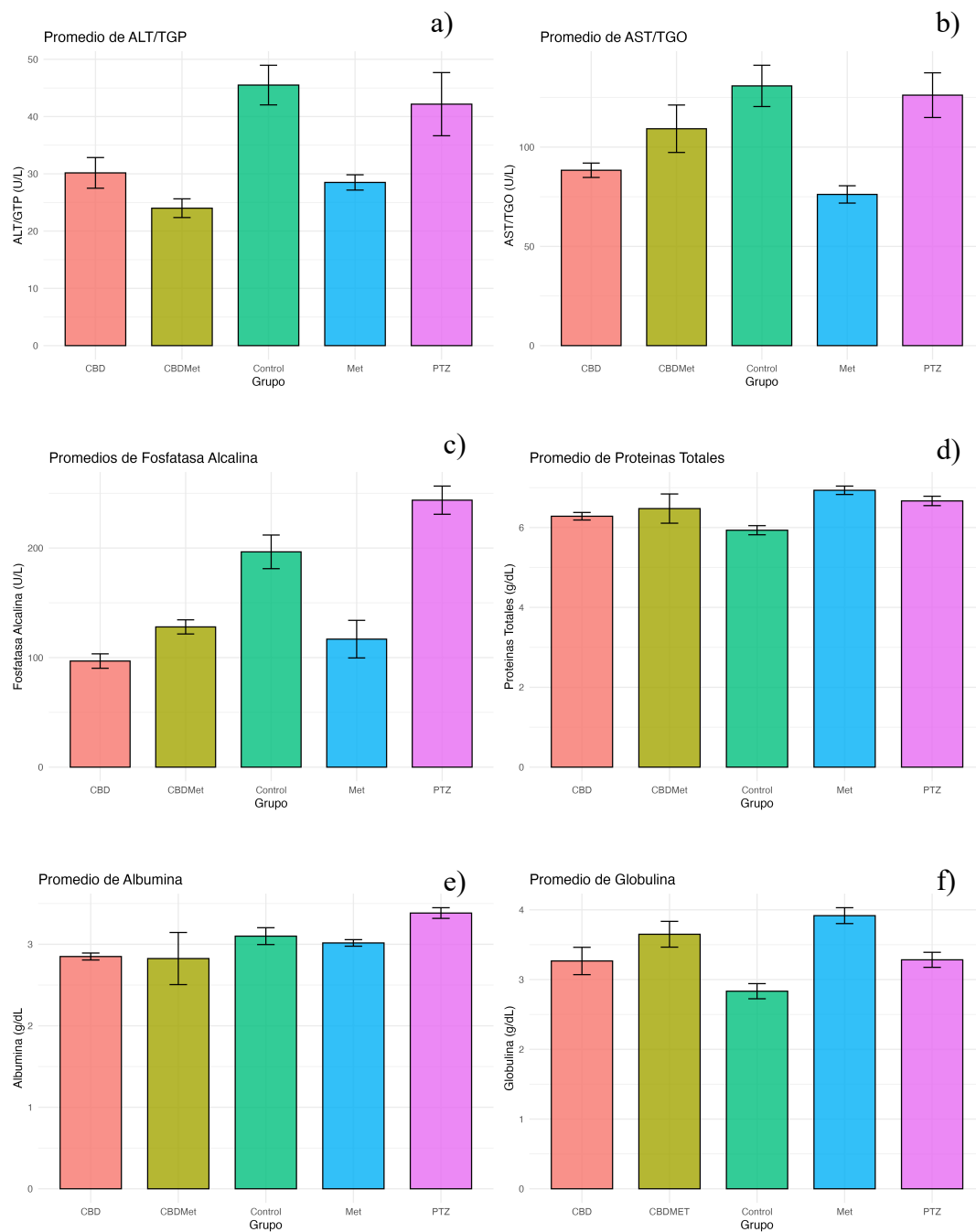


Figura 17. Promedio de las concentraciones de: a) ALT, b) AST, c) fosfatasa alcalina, d) proteínas totales, e) albumina, f) globulina.

9. DISCUSIÓN.

Se han realizado diferentes modelos animales sobre el efecto antiepiléptico del CBD y de la metformina, como se mencionó en los antecedentes [23; 24; 25; 26; 27; 28], observándose una reducción de la intensidad de las convulsiones para estos, estos resultados fueron similares a lo que se observó en los grupos que recibieron el tratamiento individual, observándose una diferencia significativa con el grupo control.

Algunos estudios han evaluado el efecto de la latencia, es decir el tiempo que toma a que se desencadene la convulsión después de un estímulo. Para el caso de la metformina se observó un incremento en la latencia como fue observado en la literatura por Hussein [28], sin embargo, esta diferencia en nuestro caso no fue estadísticamente significativa con respecto al grupo control.

En el caso del tratamiento con CBD, al igual que con la metformina se observó un incremento en la latencia en comparación con el grupo control, al igual que lo reportado en la literatura por Gáll [31]. Sin embargo, este incremento no fue significativo estadísticamente.

Para el caso de la duración de las crisis existe cierta diferencia en la forma en que se realiza esta medición en diferentes estudios, para el caso del presente trabajo se decidió tomar la duración desde el primer indicio de una crisis, hasta que el animal se haya recuperado por completo, en el caso de los grupos con tratamiento observamos crisis del tipo sacudidas mioclónicas (3 en la escala modificada de Racine) las cuales duran un par de segundo, pero se presentaron múltiples veces. Por lo que todos los grupos de tratamiento, incluidos los de la combinación presentan una duración alta. Comparando

esto con lo reportado en la literatura por Hussein [28] para la metformina, observaron una disminución de la duración, sin embargo, no especifican la forma en la que se midió la duración.

Por su parte, Kaplan [32] reportó una disminución de la duración de convulsiones, sin embargo, esto fue utilizando dosis de CBD superiores a las que se utilizaron en este estudio. Gáll [31] utilizando la misma dosis empleada en este estudio no observó diferencia significativa en la duración de las crisis.

Para el caso de la combinación de interés de este proyecto, CBD-metformina, los resultados observados fueron interesantes, estadísticamente presentaron una mejoría en comparación con el grupo control PTZ, sin embargo, esta mejoría no fue similar a la observada en los grupos individuales de tratamiento. Esto nos puede dar indicio a que ocurren diversas interacciones a niveles moleculares en las rutas metabólicas que se ven influidas por el CBD y la metformina.

Cabe destacar que el estudio busca identificar la posibilidad de un efecto combinado de ambos de forma preliminar, mas no si llega a ocurrir o no una sinergia, ya que para eso se requieren estudios enfocados en ello [33].

Para la determinación de un posible daño hepático por los tratamientos utilizados o la combinación de estos a las dosis utilizadas, no se encontró reportado en estudios similares que se realizara. Sin embargo, al comparar los resultados obtenidos de estos parámetros bioquímicos con los rangos reportados en la literatura para las ratas [34; 35], estos se encontraron dentro de los rangos normales, por lo que se descarta un posible daño hepático a las dosis y tiempos que se administró el tratamiento.

10. CONCLUSIONES.

- La combinación cannabidiol metformina redujo la intensidad de las convulsiones, sin embargo, esta no tuvo diferencia significativa con respecto a los tratamientos individuales.
- No existe diferencia significativa entre la combinación de cannabidiol-metformina con los tratamientos individuales para la latencia y duración de las crisis.
- Los valores de los parámetros bioquímicos para la función hepática de todos los grupos no indicaron la generación de un daño hepático.

11. PERSPECTIVAS

Como trabajo a futuro quedo pendiente la realización de los estudios histológicos a los tejidos tomados para la determinación de un posible efecto neuroprotector. Se recomienda realizar el estudio por una duración mayor de tiempo, así como modificando las dosis tanto del CBD como de la metformina. De igual manera el monitoreo de la función hepática, tanto a dosis mayores y tiempo de tratamiento más largos sería importante para asegurar la seguridad de un posible tratamiento a largo plazo.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Fisher, R. S., Van Emde Boas, W., Blume, W., Elger, C., Genton, P., Lee, P., & Engel, J. (2005). Epileptic seizures and epilepsy: Definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). In *Epilepsia* (Vol. 46, Issue 4, pp. 470–472). <https://doi.org/10.1111/j.0013-9580.2005.66104.x>
- [2] Pesqueira, G. Q., San-Juan, D., Albarrán, R. H., Vazquez, M. L., Canales, G. Q., & Pesqueira, J. G. (2023). A systematic review of the epidemiology of epilepsy in Mexico during 1970 to 2020. In *Arquivos de Neuro-Psiquiatria* (Vol. 81, Issue 1, pp. 74–80). Associacao Arquivos de Neuro-Psiquiatria. <https://doi.org/10.1055/s-0042-1758647>
- [3] Berg, A. T., Berkovic, S. F., Brodie, M. J., Buchhalter, J., Cross, J. H., Van Emde Boas, W., Engel, J., French, J., Glauser, T. A., Mathern, G. W., Moshé, S. L., Nordli, D., Plouin, P., & Scheffer, I. E. (2010). Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: Report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. *Epilepsia*, 51(4), 676–685. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2010.02522.x>
- [4] CDC. (2020, September 30). *Types of Seizures*. National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion. <https://www.cdc.gov/epilepsy/about/types-of-seizures.htm>
- [5] Fisher, R. S., Acevedo, C., Arzimanoglou, A., Bogacz, A., Cross, J. H., Elger, C. E., Engel, J., Forsgren, L., French, J. A., Glynn, M., Hesdorffer, D. C., Lee, B. I.,

- Mathern, G. W., Moshé, S. L., Perucca, E., Scheffer, I. E., Tomson, T., Watanabe, M., & Wiebe, S. (2014). ILAE Official Report: A practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*, 55(4), 475–482. <https://doi.org/10.1111/epi.12550>
- [6] Balestrini, S., Arzimanoglou, A., Blümcke, I., Scheffer, I. E., Wiebe, S., Zelano, J., & Walker, M. C. (2021). The aetiologies of epilepsy. *Epileptic Disorders*, 23(1), 1–16. <https://doi.org/10.1684/epd.2021.1255>
- [7] Engelborghs, S., D’Hooge, R., & De Deyn, P. P. (2000). Pathophysiology of epilepsy. *Acta Neurologica Belgica*, 4(100), 201–2013.
- [8] Sumadewi, K. T., Harkitasari, S., & Tjandra, D. C. (2023). Biomolecular mechanisms of epileptic seizures and epilepsy: a review. In *Acta Epileptologica* (Vol. 5, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s42494-023-00137-0>
- [9] *GUÍA CLÍNICA Epilepsia*. (n.d.-i).
- [10] Corrales-Hernández, M. G., Villarroel-Hagemann, S. K., Mendoza-Rodelo, I. E., Palacios-Sánchez, L., Gaviria-Carrillo, M., Buitrago-Ricaurte, N., Espinosa-Lugo, S., Calderon-Ospina, C. A., & Rodríguez-Quintana, J. H. (2023). Development of Antiepileptic Drugs throughout History: From Serendipity to Artificial Intelligence. In *Biomedicines* (Vol. 11, Issue 6). MDPI. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11061632>
- [11] Sánchez, J. D., Gómez-Carpintero, J., González, J. F., & Menéndez, J. C. (2024). Twenty-first century antiepileptic drugs. An overview of their targets and synthetic approaches. In *European Journal of Medicinal Chemistry* (Vol. 272). Elsevier Masson s.r.l. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2024.116476>

- [12] Sabzvari, T., Aflahe Iqbal, M., Ranganatha, A., Daher, J. C., Freire, I., Shamsi, S. M. F., Paul Anthony, O. V., Hingorani, A. G., Sinha, A. S., & Nazir, Z. (2024). A Comprehensive Review of Recent Trends in Surgical Approaches for Epilepsy Management. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.71715>
- [13] Peng, J., Fan, M., An, C., Ni, F., Huang, W., & Luo, J. (2022). A narrative review of molecular mechanism and therapeutic effect of cannabidiol (CBD). In *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology* (Vol. 130, Issue 4, pp. 439–456). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/bcpt.13710>
- [14] Brueggeman, L., Sturgeon, M. L., Martin, R. M., Grossbach, A. J., Nagahama, Y., Zhang, A., Howard, M. A., Kawasaki, H., Wu, S., Cornell, R. A., Michaelson, J. J., & Bassuk, A. G. (2019). Drug repositioning in epilepsy reveals novel antiseizure candidates. *Annals of Clinical and Translational Neurology*, 6(2), 295–309. <https://doi.org/10.1002/acn3.703>
- [15] Navarrete, F., García-Gutiérrez, M. S., Jurado-Barba, R., Rubio, G., Gasparyan, A., Austrich-Olivares, A., & Manzanares, J. (2020). Endocannabinoid System Components as Potential Biomarkers in Psychiatry. In *Frontiers in Psychiatry* (Vol. 11). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpsyt.2020.00315>
- [16] Gray, R. A., & Whalley, B. J. (2020). The proposed mechanisms of action of CBD in epilepsy. *Epileptic Disorders*, 22(S1), S10–S15. <https://doi.org/10.1684/epd.2020.1135>
- [17] Bailey, C. J. (2017). Metformin: historical overview. In *Diabetologia* (Vol. 60, Issue 9, pp. 1566–1576). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4318-z>

- [18] Alnaaim, S. A., Al-kuraishy, H. M., Al-Gareeb, A. I., Ali, N. H., Alexiou, A., Papadakis, M., Saad, H. M., & Batiha, G. E. (2023). New insights on the potential anti-epileptic effect of metformin: Mechanistic pathway. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 27(24), 3953–3965. <https://doi.org/10.1111/jcmm.17965>
- [19] Shareef, U., Altaf, A., Ahmed, M., Akhtar, N., Almuhayawi, M. S., Al Jaouni, S. K., Selim, S., Abdelgawad, M. A., & Nagshabandi, M. K. (2024). A comprehensive review of discovery and development of drugs discovered from 2020–2022. In *Saudi Pharmaceutical Journal* (Vol. 32, Issue 1). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2023.101913>
- [20] Brandão, L. B. S., Veiga, D. A. S. da, Maravilha Dantas e Sousa Almeida, H., Oliveira, I. de S., & Ferreira, S. B. (2023). Progress and Understandings in the Pharmacological Repositioning Scenario. *European Journal of Medical and Health Sciences*, 5(1), 28–31. <https://doi.org/10.24018/ejmed.2023.5.1.1660>
- [21] Reddy, D. S., Vadassery, A., Ramakrishnan, S., Singh, T., Clossen, B., & Wu, X. (2024). Kindling Models of Epileptogenesis for Developing Disease-Modifying Drugs for Epilepsy. *Current Protocols*, 4(10). <https://doi.org/10.1002/cpz1.70020>
- [22] Lakshminarayanashastry Viswanatha, G., Shylaja, H., Darisi, &, Kishore, V., Venkataranganna, M. V, Bheema, N., & Prasad, L. (n.d.-v). *Acteoside Isolated from Colebrookea oppositifolia Smith Attenuates Epilepsy in Mice Via Modulation of Gamma-Aminobutyric Acid Pathways*. <https://doi.org/10.1007/s12640-020-00267-0>/Published

- [23] Friedman, L. K., & Wongvavrit, J. P. (2018). Anticonvulsant and neuroprotective effects of cannabidiol during the juvenile period. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 77(10), 904–919. <https://doi.org/10.1093/jnen/nly069>
- [24] Patel, D. C., Wallis, G., Fujinami, R. S., Wilcox, K. S., & Smith, M. D. (2019). Cannabidiol reduces seizures following CNS infection with Theiler's murine encephalomyelitis virus. *Epilepsia Open*, 4(3), 431–442. <https://doi.org/10.1002/epi4.12351>
- [25] Patra, P. H., Barker-Haliski, M., White, H. S., Whalley, B. J., Glyn, S., Sandhu, H., Jones, N., Bazelot, M., Williams, C. M., & McNeish, A. J. (2019). Cannabidiol reduces seizures and associated behavioral comorbidities in a range of animal seizure and epilepsy models. *Epilepsia*, 60(2), 303–314. <https://doi.org/10.1111/epi.14629>
- [26] Zhao, R. R., Xu, X. C., Xu, F., Zhang, W. L., Zhang, W. L., Liu, L. M., & Wang, W. P. (2014). Metformin protects against seizures, learning and memory impairments and oxidative damage induced by pentylenetetrazole-induced kindling in mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 448(4), 414–417. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.04.130>
- [27] Mehrabi, S., Sanadgol, N., Barati, M., Shahbazi, A., Vahabzadeh, G., Barzroudi, M., Seifi, M., Gholipourmalekabadi, M., & Golab, F. (2018). Evaluation of metformin effects in the chronic phase of spontaneous seizures in pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *Metabolic Brain Disease*, 33(1), 107–114. <https://doi.org/10.1007/s11011-017-0132-z>

- [28] Hussein, A. M., Eldosoky, M., El-Shafey, M., El-Mesery, M., Ali, A. N., Abbas, K. M., From, O. A. A., & Hussein, A.-A. M. (n.d.-ab). Effects of Metformin on Apoptosis and Alpha Synuclein in Rat Model of Pentylentetrazole-induced Epilepsy. In *J. Physiol. Pharmacol.* Downloaded from www.nrcresearchpress.com by Det Kongelige Bibliotek: Nationalbibliotek og Kbenhavns Universitetsbibliotek on (Vol. 10, Issue 18). www.nrcresearchpress.com
- [29] Ramos-Morales, F. R., Correa-Basurto, J., Saavedra-Vélez, M., Acosta-Hernández, M. E., Gasca-Pérez, E., Pérez-Palacios, A., & Trujillo-Ferrara, J. (2012). *Modelo PTZ: un screening primario para el desarrollo de nuevas moléculas con actividad anticonvulsivante* (Vol. 17, Issue 1).
- [30] Dhir, A. (2012). Pentylentetrazol (PTZ) kindling model of epilepsy. *Current Protocols in Neuroscience*, 1(SUPPL.58), 1–12. <https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0937s58>
- [31] Gáll, Z., Kelemen, K., Tolokán, A., Zolcsek, I., Sável, I., Bod, R., Ferencz, E., Vancea, S., Urkon, M., & Kolcsár, M. (2022). Anticonvulsant Action and Long-Term Effects of Chronic Cannabidiol Treatment in the Rat Pentylentetrazole-Kindling Model of Epilepsy. *Biomedicines*, 10(8). <https://doi.org/10.3390/biomedicines10081811>
- [32] Kaplan, J. S., Stella, N., Catterall, W. A., & Westenbroek, R. E. (2017). Cannabidiol attenuates seizures and social deficits in a mouse model of Dravet syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(42), 11229–11234. <https://doi.org/10.1073/pnas.1711351114>

- [33] Calzetta, L., Page, C., Matera, M. G., Cazzola, M., & Rogliani, P. (2024). Drug-Drug Interactions and Synergy: From Pharmacological Models to Clinical Application. In *Pharmacological Reviews* (Vol. 76, Issue 6, pp. 1159–1220). American Society for Pharmacology and Experimental Therapy (ASPET). <https://doi.org/10.1124/pharmrev.124.000951>
- [34] Giknis, M. L. A., Charles, B., & Clifford, D. V. M. (2006). *CHARLES RIVER LABORATORIES Information Prepared by.*
- [35] Vargas Mamani, J. J. (2020). Parámetros bioquímicos y sanguíneos de la rata de laboratorio (*Rattus norvegicus*): revisión de la literatura. *Revista Peruana de Medicina Integrativa*, 5(1), 37–39. <https://doi.org/10.26722/rpmi.2020.51.169>

APÉNDICES

Apéndice 1: Escala Modificada de Racine [30]

Fase 1: Ausencia.

Fase 2: Piloerección, movimiento de bigotes, guiño de ojo, movimientos de cabeza (noding).

Fase 3: Sacudidas mioclónicas.

Fase 4: Clonus de extremidades anteriores

Fase 5: Posición de canguro

Fase 6: Crisis clónica generalizada con pérdida de postura.

RESUMEN AUTOBIOGRAFICO

Adolfo José Zamora Aceves

Candidato para el Grado de

Maestro en Ciencias con Orientación en Farmacia

Tesis: EFECTO ANTICONVULSIVO DE LA COMBINACION CANNABIDIOL-
METFORMINA EN UN MODELO DE CONVULSIONES CRONICAS

Campo de Estudio: Farmacología

Biografía:

Datos Personales: Nacido en Guadalajara, Jalisco el 7 de junio de 1990, hijo de
Adolfo Zamora Cruz y Ana María Aceves González.

Educación: Egresado del Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, campus
Monterrey, grado obtenido Licenciado en Ciencias Químicas en 2024, con la tesis:
Model Study for the Synthesis of the Maleic Anhydride Unit Present in CP-
225,917.

Experiencia Profesional: Aseguramiento de Calidad de Cosméticos de 2014 a 2015,
Auxiliar Administrativo desde 2020.