

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

EVALUACIÓN DEL EFECTO PROTECTOR DEL CANNABIDIOL CONTRA LA
NEUROPATÍA PERIFÉRICA INDUCIDA POR LEVOFLOXACINA

Lizeth Carolina Vargas Núñez

Trabajo de Grado para Optar al Título de Magister en Ciencias Básicas Biomédicas

Director

Mario Felipe Negrette Guzmán, PhD.

Departamento de Ciencias Básicas, Escuela de Medicina UIS

Codirector

Diego Rincón Castillo, MSc.

Departamento de Ciencias Básicas, Escuela de Medicina UIS

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Salud

Escuela de Medicina

Maestría en Ciencias Básicas Biomédicas

Bucaramanga

2025

Dedicatoria

A ellos, que me apoyan, guían e inspiran desde la perseverancia y resiliencia, mi familia. A mis padres Uriel Vargas Bayona y Gloria Núñez Duarte y a mis hermanos, Rigoberto Colmenares Núñez y Carlos Uriel Vargas Núñez. Mi esencia, mi todo.

Agradecimientos

Expreso mi gratitud al proyecto "Formación de Alto Nivel para el Departamento de Santander en la Universidad Industrial de Santander" (BPIN 20201000100536), por el apoyo económico brindado para mi sostenimiento durante la realización del programa de posgrado. Asimismo, agradezco al proyecto 3724 de la VIE de la UIS, por el respaldo financiero para la adquisición de equipos de laboratorio y materiales, fundamentales para el desarrollo de esta investigación.

A la Coordinación de la Maestría y a la Decanatura de la Facultad de Salud por su respaldo institucional y financiero para la presentación de este trabajo en un congreso internacional.

Reconozco el valioso apoyo del Grupo de Investigación en Bioquímica y Microbiología (GIBIM), del Centro de Investigaciones en Enfermedades Tropicales (CINTROP) y Laboratorio de Genética Molecular de Enfermedades Infecciosas y Cáncer (GEMEICA), por la provisión de reactivos y materiales, así como a sus integrantes por su ayuda indispensables para la ejecución del proyecto.

Agradezco al Bioterio de la UIS y particularmente, a Jesús Rodríguez y Eduardo Caballero, por su dedicación en el cuidado de los animales empleados en este estudio y por la enseñanza brindada.

Extiendo mi agradecimiento al Grupo de Investigación en Farmacología y Metabolismo (FARMET) y a mis compañeros de trabajo, Sebastian Cubides, Viviana Pimiento, Pablo Padro, Alexander David y Pedro Espítia, quienes contribuyeron al desarrollo de esta investigación.

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

A mis compañeras de maestría Dayany Arias, Dayana Perdomo y Laura Chaparro, quienes con su colaboración y amistad hicieron de este camino una experiencia más enriquecedora y llevadera.

Agradezco al profesor Mario Negrette, tutor de esta tesis y al profesor Diego Rincón, codirector, por su orientación, dedicación y apoyo constante a lo largo de mi proceso de formación académica.

Expreso mi agradecimiento a mis amigas y hermanas de vida, Juliana Carrillo, Erika Moreno, Diana Mujica, Daniela Villamizar y Francia Sepúlveda, por escucharme, apoyarme y hacerme ver que todo es posible cuando se persevera, haciendo este proceso más cálido y profundo.

A mis amigos biólogos, Laura Vargas, Cristian Cagua, Juan Ramírez, Ángela Villamizar y Denisse Durán por los momentos compartidos durante el transcurso de mi carrera profesional y personal.

A Sergio Rincón Ortiz, que con su cariño, respaldo, inspiración y fortaleza me acompañó en la última etapa de la de investigación. Gracias por creer en mí y recordarme día a día que ningún obstáculo es demasiado grande cuando se cuenta una compañía real.

Al equipo del Surflab, en especial a mis amigos Julieth García, Valentina Mendoza y Felipe Daza, quienes me regalaron risas y su presencia cuando el camino se hacía complejo.

Finalmente, agradezco a mi tía, Myriam Núñez, a mi abuela Cecilia Duarte y a mis primos, Paola Pacheco, Richard Vega y Andrea Pacheco, porque con su amor y compañía constante, me motivan a perseguir mis sueños.

Tabla de Contenido

	Pág.
<i>Introducción</i>	<i>13</i>
1. Marco teórico	15
1.1. Neuropatía periférica inducida por fármacos	15
1.2. Estrés oxidante	16
1.3. Levofloxacina	17
1.4. Cannabinoides	20
2. Objetivos	23
2.1. Objetivo General	23
2.2. Objetivos Específicos	23
3. Metodología de la investigación	23
3.1. Establecimiento del modelo experimental animal	25
3.1.1. Determinación de la AST y ALT de modo cinético	27
3.1.2. Determinación de Creatina Quinasa (CK-MB).....	27
3.1.3. Determinación de Nitrógeno ureico en sangre.....	28
3.1.4. Determinación de fosfatasa alcalina en modo cinético.....	28
3.1.5. Determinación de creatinina K	29
3.2. Evaluación del efecto del CBD contra alteraciones inducidas por levofloxacina .	29
3.3. Evaluación de los mecanismos de toxicidad y protección	30

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

3.4. Evaluación de marcadores de estrés y daño oxidante en homogenado de nervio ciático.	31
3.4.1. Cuantificación de la peroxidación lipídica mediante determinación de 4-HNE.....	31
3.4.2. Determinación de GSH total.....	33
3.4.3. Determinación de la actividad enzimática de catalasa.....	34
3.4.4. Determinación de la actividad enzimática de la superóxido dismutasa.....	34
3.5. Análisis histológico	35
3.6. Análisis estadístico	35
4. Resultados	36
4.1. Inducción de neuropatía periférica	36
4.1.1. Parámetros bioquímicos y hematológicos	38
4.2. Tratamiento de protección con CBD frente a la toxicidad inducida por la levofloxacina	40
4.2.1. Pruebas nociceptivas.....	40
Presión en cola	40
Presión en pata	42
Placa caliente	44
4.2.2. Cuantificación de proteínas y determinación de marcadores de estrés oxidante.....	46
4.2.2.1. Peroxidación lipídica	48
4.2.2.2. GSH total	49
4.2.2.3. Superóxido dismutasa	50
4.2.2.4. Catalasa	51

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

4.3. Evaluación histológica de nervio ciático	51
5. <i>Discusión</i>	55
6. <i>Conclusiones</i>	66
7. <i>Recomendaciones</i>.....	67
<i>Referencias Bibliográficas</i>.....	68

Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1. Grupos experimentales según esquema de administración.....	30
Tabla 2. Preparación de curva estándar de TMPO para análisis de 4-HNE	32
Tabla 3. Cantidades para preparación de soluciones para la determinación de 4-HNE	32
Tabla 4. Parámetros bioquímicos de toxicidad en ratas Wistar tratadas con levofloxacin.	38
Tabla 5. Parámetros hematológicos en ratas Wistar tratadas con levofloxacin.	39
Tabla 6. Determinación de la concentración de proteínas totales en las muestras mediante el método de Bradford.	47
Tabla 7. Valores para marcadores de estrés oxidante en homogenados de nervio ciático de ratas Wistar tratadas con levofloxacin y/o CBD.....	48
Tabla 8. Parámetros morfométricos de nervio ciático de ratas Wistar tratadas con levofloxacin y/o CBD.	52

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1. Fuentes, regulación y efectos biológicos de las especies reactivas de oxígeno.	17
Figura 2. Mecanismo de acción de levofloxacin.....	18
Figura 3. Modulación sináptica mediada por CBD vía CB ₁	20
Figura 4. Fases del trabajo de investigación.....	24
Figura 5. Pruebas nociceptivas empleadas en el estudio.. ..	36
Figura 6. Pruebas nociceptivas durante cuatro días de tratamiento registradas a partir del día 4 del tratamiento con LEV.....	37
Figura 7. Valores de umbral de retirada de la cola (g) en ratas Wistar tratadas con levofloxacin y/o CBD.....	41
Figura 8. Valores de umbral de retirada de la pata (g) en ratas Wistar tratadas con levofloxacin y/o CBD.....	43
Figura 9. Valores de tiempo (s) de latencia en placa caliente en ratas Wistar tratadas con levofloxacin y/o CBD.....	45
Figura 10. Curva estándar de albúmina sérica bovina (BSA) obtenida mediante el método de Bradford para la cuantificación de proteínas totales.....	46
Figura 11. Curva de calibración estándar de TMPO para la cuantificación de 4-HNE en homogenados de nervio ciático de ratas Wistar tratadas con levofloxacin y/o CBD.	49
Figura 12. Curvas de velocidad para los estándares de GSH en homogenados de nervio ciático de ratas Wistar tratadas con levofloxacin y/o CBD.....	50
Figura 13. Curva de calibración de concentración de estándares de GSH vs pendiente.	50

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

Figura 14. Imágenes representativas de cortes histológicos longitudinales y transversales del nervio ciático de ratas Wistar teñidos con hematoxilina y eosina en los diferentes grupos experimentales, observadas a 40x..... 53

Figura 15. Imagen histológica transversal de fascículo nervioso de rata Wistar del grupo tratado con levofloxacin teñido con H&E, observada a un aumento de 10x.. 54

Resumen

Título: Evaluación del efecto protector del cannabidiol contra la neuropatía periférica inducida por levofloxacina*

Autor: Lizeth Carolina Vargas Núñez**

Palabras Clave: Neuropatía periférica, levofloxacina, cannabidiol, estrés oxidante, pruebas nociceptivas

Descripción:

La levofloxacina, antimicrobiano del grupo de las fluoroquinolonas, es ampliamente utilizada en el tratamiento de infecciones respiratorias, urinarias y gastrointestinales. Sin embargo, ha sido asociada con efectos adversos severos como la neuropatía periférica, caracterizada por dolor, entumecimiento y pérdida de reflejos. A pesar de la evidencia clínica, sus mecanismos neurotóxicos aún no están claramente definidos y existen pocas estrategias terapéuticas disponibles. En este trabajo se desarrolló y validó un modelo preclínico de neuropatía periférica inducida por levofloxacina en ratas Wistar, mediante la administración oral de 125 mg/kg/día durante siete días. Las alteraciones nociceptivas fueron evaluadas mediante pruebas de presión en pata, cola y placa caliente, evidenciándose en el grupo tratado con levofloxacina un aumento en la sensibilidad a estímulos mecánicos y una reducción en el tiempo de latencia frente al estímulo térmico. Posteriormente, se evaluó el efecto protector del cannabidiol (CBD), un compuesto con propiedades antioxidantes y neuroprotectoras, administrado intraperitonealmente en dosis de 0.3, 3 y 30 mg/kg/día. Los resultados mostraron que el tratamiento combinado con CBD logró una recuperación parcial de los umbrales nociceptivos, especialmente a dosis altas. Asimismo, se evaluaron parámetros bioquímicos y hematológicos, sin hallazgos significativos en su mayoría.

La evaluación de estrés oxidante en homogenados de nervio ciático incluyó la medición de peroxidación lipídica (4-HNE), niveles de glutatión (GSH), y actividades enzimáticas de catalasa y superóxido dismutasa, donde no se encontraron diferencias significativas entre los grupos y el análisis histológico no evidenció cambios estructurales en el nervio ciático.

Este estudio constituye una contribución pionera al establecer un modelo experimental confiable de neuropatía inducida por fluoroquinolonas y sugiere el potencial del CBD por su efecto antinociceptivo frente al dolor neuropático. Sus implicaciones son relevantes tanto para la investigación biomédica como para el desarrollo de nuevas terapias con cannabinoides en contextos clínicos.

* Trabajo de Grado

** Facultad de Salud. Escuela de Medicina. Maestría en Ciencias Básicas Biomédicas. Director: Mario Negrette Guzmán, PhD. Codirector: Diego Rincón Castillo, MSc.

Abstract

Title: Evaluation of the protective effect of cannabidiol against levofloxacin-induced peripheral neuropathy *

Author(s): Lizeth Carolina Vargas Núñez **

Key Words: Peripheral neuropathy, levofloxacin, cannabidiol, oxidative stress, nociceptive tests

Description:

Levofloxacin, an antimicrobial agent from the fluoroquinolone class, is widely used in the treatment of respiratory, urinary, and gastrointestinal infections. However, it has been associated with severe adverse effects such as peripheral neuropathy, characterized by pain, numbness, and loss of reflexes. Despite clinical evidence, its neurotoxic mechanisms remain poorly understood, and few therapeutic strategies are currently available. In this study, a preclinical model of levofloxacin-induced peripheral neuropathy was developed and validated in Wistar rats through oral administration of 125 mg/kg/day for seven consecutive days. Nociceptive alterations were assessed using paw pressure, tail pressure, and hot plate tests, revealing increased sensitivity to mechanical stimuli and reduced latency to thermal stimuli in the levofloxacin-treated group.

Subsequently, the potential protective effect of cannabidiol (CBD), a compound with antioxidant and neuroprotective properties, was evaluated via intraperitoneal administration at doses of 0.3, 3, and 30 mg/kg/day. Results indicated that combined treatment with CBD led to partial recovery of nociceptive thresholds, particularly at higher doses. Additionally, biochemical and hematological parameters were assessed, showing no significant differences.

Oxidative stress was evaluated in sciatic nerve homogenates by measuring lipid peroxidation (4-HNE), glutathione (GSH) levels, and the enzymatic activities of catalase and superoxide dismutase, with no significant differences observed between groups. Histological analysis also revealed no structural changes in the sciatic nerve.

This study constitutes a pioneering contribution by establishing a reliable experimental model of fluoroquinolone-induced neuropathy and suggests the potential of CBD due to its antinociceptive effect against neuropathic pain. Its implications are relevant both for biomedical research and for the development of new cannabinoid-based therapies in clinical contexts.

* Degree Work

** Faculty of Health. School of Medicine. Master's Program in Biomedical Basic Sciences. Advisor: Mario Negrette Guzmán, PhD. Co-advisor: Diego Rincón Castillo, MSc.

Introducción

La levofloxacin es un antimicrobiano perteneciente al grupo de las fluoroquinolonas, ampliamente utilizado a nivel mundial para el tratamiento de infecciones respiratorias, urinarias y gastrointestinales (Rossi & Sternon, 2001; King et al., 2000). En Colombia, su uso se ha extendido incluso a patologías en las que no cuenta con indicación formal, lo cual incrementa el riesgo de aparición de eventos adversos no previstos (Machado-Duque et al., 2020). La evidencia clínica ha documentado que las fluoroquinolonas pueden inducir efectos secundarios multisistémicos, persistentes y debilitantes, con impacto sobre los sistemas nervioso, musculoesquelético (Golomb, Koslik & Redd, 2015; Marchant, 2018) e incluso endocrino (Chou et al., 2013). Particularmente, su uso oral se ha vinculado con un riesgo elevado de neuropatía periférica, caracterizada por síntomas como dolor, hormigueo, entumecimiento, pérdida sensorial y debilidad (Fish, 2001; Staff & Dyck, 2019), siendo la levofloxacin una de las fluoroquinolonas más frecuentemente implicadas en estos eventos (Cohen, 2001; Ali, 2014; Etminan, Brophy & Samii, 2014).

A pesar del creciente número de reportes clínicos que asocian a este antibiótico con neurotoxicidad periférica, no existe un modelo experimental preclínico validado que permita estudiar de forma sistemática dicha afección. Esto limita el desarrollo de estrategias terapéuticas eficaces para su prevención o tratamiento. Estudios con otros fármacos neurotóxicos han implicado al estrés oxidante, la disfunción mitocondrial y la apoptosis neuronal como posibles mecanismos comunes de daño (Mir et al., 2009; Kim et al., 2018), los cuales podrían también estar presentes en la neuropatía inducida por fluoroquinolonas (Dukewich et al., 2017; Ghavanini, 2017; Morales et al., 2019). En este contexto, el presente estudio adquiere relevancia teórica y metodológica al

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

proponer el diseño y validación de un modelo animal de neuropatía periférica inducida por levofloxacina, lo que permite explorar los mecanismos patológicos involucrados, incluyendo el desequilibrio redox en el tejido nervioso periférico.

Con base en la evidencia preclínica y clínica disponible, se planteó además el uso del cannabidiol (CBD) como una posible estrategia terapéutica para contrarrestar los efectos neurotóxicos de la levofloxacina. Diversos estudios han documentado sus propiedades antinociceptivas (Bridgeman & Abazia, 2017; Lötsch, Weyer-Menkhoff & Tegeder, 2018), así como su capacidad para promover la regeneración axonal, la remielinización, y la protección contra el daño mitocondrial y el estrés oxidante (Pazos et al., 2012; Erukainure et al., 2020; Khaksar et al., 2022). A partir de ello, se planteó la hipótesis de que el CBD podría ejercer un efecto protector en el nervio periférico, mediado por la modulación del estado redox celular y la prevención del daño estructural neuronal. Esta aproximación experimental, además de innovadora, permite vincular de manera directa hallazgos moleculares con posibles aplicaciones terapéuticas.

De esta forma, se formuló la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuál es el efecto del cannabidiol (CBD) sobre la neuropatía periférica inducida por la levofloxacina en un modelo experimental en ratas? Para responderla, se diseñó un protocolo experimental que integró la inducción de neuropatía por levofloxacina, la evaluación funcional mediante pruebas nociceptivas térmicas y mecánicas, y el análisis bioquímico y morfológico del tejido nervioso. A través de este enfoque, se buscó no solo validar un modelo de neuropatía farmacológica, sino también aportar evidencia sobre el posible uso del CBD como agente terapéutico neuroprotector en escenarios de daño inducido por antibióticos.

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

Finalmente, este trabajo de investigación se justifica por su impacto potencial en el ámbito clínico y social. Desde una perspectiva médica, los hallazgos podrían orientar el desarrollo de nuevas estrategias para mitigar los efectos secundarios de tratamientos antibióticos frecuentes, mejorando así la calidad de vida de los pacientes. Desde el punto de vista económico y regulatorio, este estudio contribuye a fortalecer la base científica para el uso terapéutico del cannabidiol en Colombia, un país donde su acceso legal es limitado y la producción local apenas comienza a consolidarse (Ledezma-Morales, Rodríguez & Amariles, 2020; Orjuela-Rojas, García Orjuela & Ocampo Serna, 2021). Así, esta investigación no solo responde a una necesidad biomédica concreta, sino que también se proyecta como una herramienta para fomentar la innovación terapéutica y el desarrollo de la industria de cannabinoides medicinales en el país.

1. Marco teórico

1.1. Neuropatía periférica inducida por fármacos

La neuropatía periférica se define como un conjunto de enfermedades que presentan afectación del nervio periférico y pueden manifestarse por sensación de hormigueo, adormecimiento, quemadura, dolor, hipersensibilidad, entre otros síntomas y signos que pueden ser leves o incapacitantes, y durar desde días hasta años (Fernandez & García, 2003). Pueden clasificarse en tres grandes grupos según la cantidad de miembros comprometidos: mononeuropatías simples y múltiples, y polineuropatías distales (Kraychete & Sakata, 2011).

Las causas de las neuropatías son múltiples, dentro de las cuáles se pueden encontrar lesiones físicas, enfermedades autoinmunes, tumores, infecciones, desórdenes hormonales, y por exposición a ciertas toxinas y fármacos (Hammi & Yeung, 2023). Se ha encontrado que los

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

fármacos que están mayormente asociados con las neuropatías son agentes quimioterapéuticos y antibióticos (Manji, 2013). Sus síntomas, que son más sensoriales que motores, incluyen sensación reducida y sensibilidad aumentada a la presión, el dolor, la temperatura y el tacto (Desforges et al., 2022).

1.2. Estrés oxidante

El estrés oxidante se define como una condición resultante del desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) y la capacidad del sistema antioxidante celular para neutralizarlas y reparar el daño inducido (Díaz-Hung & Fraguela, 2014; Pruchniak, Araźna & Demkow, 2015; Voronkova et al., 2018). Este sistema antioxidante comprende componentes enzimáticos, como la superóxido dismutasa (Wang et al., 2018), la catalasa (Galasso et al., 2021), las glutatión peroxidasas y reductasas (Ighodaro & Akinloye, 2018), así como mecanismos no enzimáticos, entre los que se incluyen el glutatión reducido (GSH), la vitamina C, entre otros (Birben et al., 2012; Al-Dalaen & Al-Qtaitat, 2014) (Figura 1). Las ERO, en niveles fisiológicos, actúan como segundos mensajeros en vías de señalización celular que regulan procesos como proliferación, diferenciación y apoptosis (Sharma et al. 2015). Además, participan en la defensa inmunitaria mediante la activación de fagocitos y contribuyen a la modulación redox y vasodilatación. Su homeostasis es esencial para funciones celulares normales y respuestas inflamatorias controladas (Singh & Kaur, 2012; Vara & Pula, 2014). Por otra parte, las ERO son altamente reactivas causando peroxidación de lípidos, inactivación de proteínas y fragmentación del ADN (Halliwell & Gutteridge, 2015), lo que conduce a cambios celulares estructurales y funcionales generando daño oxidante, necrosis y apoptosis celular (Ünal-Çevik et al., 2004).

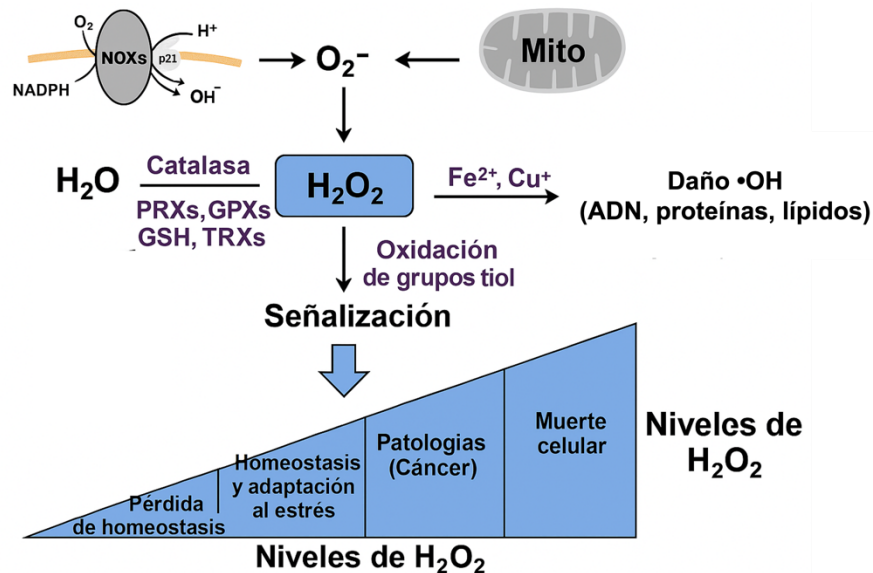


Figura 1. Fuentes, regulación y efectos biológicos de las especies reactivas de oxígeno. Imagen adaptada de Glasauer & Chandel, 2014.

1.3. Levofloxacin

La levofloxacin es una fluoroquinolona similar a la norfloxacin y ciprofloxacina. A diferencia de las quinolonas previas, la levofloxacin presenta una permeabilidad celular y lipofilia (Aridoss et al., 2009) que hace que su espectro antibacteriano incluya un buen número de bacterias Gram positivas y negativas. Lo anterior la hace altamente efectiva y, por tanto, prescrita (Anderson & Perry, 2008; Terradas et al., 2011; Ortiz, 2012).

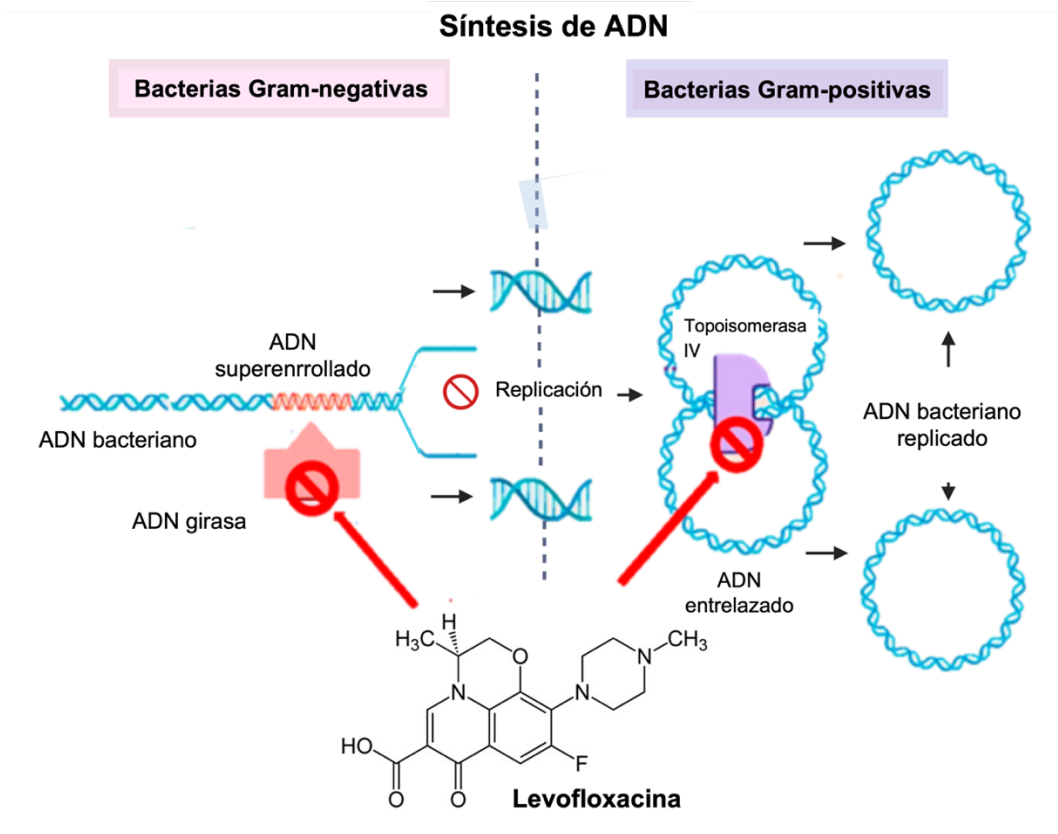


Figura 2. Mecanismo de acción de levofloxacina. Imagen adaptada de Rusu et al., 2021.

El mecanismo de acción de este antibiótico se basa en promover la rotura de las hebras de ADN al inhibir la ADN girasa en organismos susceptibles, lo que inhibe la relajación del ADN superenrollado (Podder & Sadiq, 2023). La levofloxacina interactúa con el complejo de ADN unido a la ADN girasa o topoisomerasa IV, creando cambios conformacionales que resultan en la inhibición de la actividad enzimática normal. Como resultado, el nuevo complejo fármaco-enzima-ADN bloquea la progresión de la horquilla de replicación, lo que inhibe la síntesis normal de ADN bacteriano y, en última instancia, produce una muerte celular bacteriana rápida (Figura 2) (Marians & Hiasa, 1997; Kampranis & Maxwell, 1998; Aboubakr & Soliman, 2014).

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

En cuanto a su toxicidad, se ha descubierto que la mayoría de las fluoroquinolonas tienen efectos perjudiciales en los órganos vitales (Gürbay et al., 2001), pues generan ERO que causan estrés oxidante y daño en las células del hígado y riñones (Afolabi & Oyewo, 2014). Específicamente, la toxicidad de la levofloxacin en el hígado, provoca deterioro mitocondrial y peroxidación lipídica en las membranas (Hincal & Taskin, 1995), así como alteraciones en el estado de equilibrio redox del glutati6n (GSH) (Podder & Sadiq 2023). En cuanto a los efectos renales de las fluoroquinolonas, pueden incluir necrosis tubular aguda e insuficiencia renal aguda (Ramalakshmi, Bastacky, & Johnson, 2003).

Si bien con la levofloxacin se puede tratar neumonía, infecciones de piel, sinusitis bacteriana cr6nica, profilaxis del 6ntrax, infecciones del tracto urinario y otros tipos de infecciones (Podder & Sadiq; 2023), su uso puede causar efectos secundarios tales como: fotosensibilidad, náuseas, cefalea, ruptura de tend6n, hiperglicemia, hipoglicemia, convulsiones y neuropatía periférica (Fish, 2001; Marchant, 2018; Staff & Dyck, 2019). En muchos de estos casos, los mecanismos moleculares y celulares de esta toxicidad se conocen de manera pobre o nula.

Debido a su mecanismo de inhibici6n de la topoisomerasa II en humanos, se plantea que esta enzima puede estar involucrada en la mediaci6n de los eventos adversos asociados con las quinolonas, no obstante, en investigaciones realizadas, no hay evidencia suficiente que soporte esta idea (Fief et al., 2019). Pese a lo anterior, la toxicidad de las fluoroquinolonas, podría estar asociada al aumento de las ERO y una disminuci6n de la expresi6n de proteínas mitocondriales (Nadanaciva et al., 2010; Kalghatgi et al., 2013), y la disfunci6n mitocondrial implicada en algunos eventos adversos podría explicarse por interacciones entre las fluoroquinolonas y la topoisomerasa humana II α o II β en las mitocondrias (Hangan et al., 2018).

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

1.4. Cannabinoides

Inicialmente, los cannabinoides fueron considerados uno de los más típicos compuestos del tipo C21, caracterizados por presentar una estructura con 21 átomos de carbono y estar presentes en la *Cannabis sativa*; sin embargo, actualmente su definición se basa en su estructura química y en la farmacología, englobando otros compuestos con formas parecidas que actúen sobre los receptores cannabinoides (Grotenhermen, 2006).

Existen dos rutas canónicas antinociceptivas principales de los cannabinoides que se fundamentan en la activación de los receptores CB₁ y CB₂ (Bie et al., 2018; Shahbazi et al., 2020) (Figura 3). En la primera ruta, se presenta la inhibición de la liberación de glutamato de neuronas nociceptivas y regiones asociadas al dolor. La segunda ruta se fundamenta en la liberación de opioides endógenos que reducen la activación de la nocicepción (Pisanti et al., 2017; Lötsch, Weyer-Menkhoff, & Tegeder, 2018). Los cannabinoides ya son utilizados en tratamientos para las neuropatías (Notcutt et al., 1997; Karst et al., 2003; Berman, Symonds, & Birch 2004).

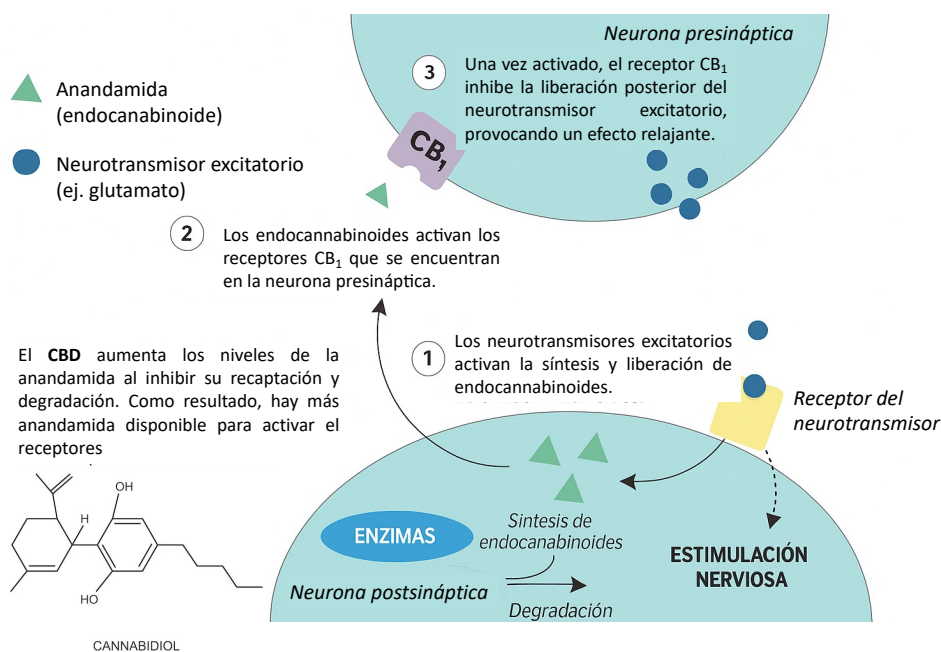


Figura 3. Modulación sináptica mediada por CBD vía CB₁. Imagen adaptada de Ryerson, 2022.

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

Estudios clínicos sugieren que los extractos de *C. sativa*, en especial aquellos que contienen CBD, pueden ser eficaces en el tratamiento del dolor neuropático, la espasticidad y otros síntomas asociados a la esclerosis múltiple (Durán-Delmás & Capellá- Hereu, 2004). Hay evidencia de que los cannabinoides pueden favorecer la remielinización y, por tanto, la regeneración axonal (Nagarkatti et al., 2009; Grotenhermen & Müller-Vahl, 2012; Rodrigues et al., 2019) y que mejoran el estatus redox neuronal en varios modelos en algunos casos exhibiendo protección mitocondrial, propiedades antioxidantes y antiapoptóticas (Erukainure et al., 2020; Raja et al., 2020; Pereira et al., 2021; Salimi et al., 2022; Khaksar et al., 2022).

Las propiedades antioxidantes del CBD pueden estar relacionadas a su estructura química. Los grupos hidroxilo y los dobles enlaces presentes en el CBD contribuyen a aumentar su capacidad para donar un electrón, haciendo que este canabinoide sea una poderosa molécula antioxidante (Figura 3). Además, podría reducir la toxicidad del peróxido en las neuronas estimuladas con glutamato (Hampson et al., 2000; Borges et al., 2013).

En cuanto a su mecanismo de acción, se ha demostrado que el CBD altera la señalización y estados de actividad de la dopamina en el cerebro, neurotransmisor involucrado en la sensación de relajación (Bhattacharyya et al., 2010; Hudson, Rushlow & Laviolette, 2018). Además, es un modulador alostérico positivo de los receptores opioides μ y δ , que participan en la regulación del dolor, lo que sugiere la participación de estos receptores en su efecto antinociceptivo (Kathmann et al., 2006). Más específicamente, el CBD atenúa la alodinia táctil y la hiperalgesia térmica (Toth et al., 2010).

Se ha observado que la mayoría de los efectos contra el dolor neuropático asociados a este canabinoide están mediados a través de sus propiedades agonistas en los receptores de serotonina

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

5-HT_{1A}, canales TRPV y canales de glicina (Bisogno et al., 2001; Russo et al., 2005; Xiong et al., 2014; Almeida & Devi 2020), así como, el bloqueo de los canales de Ca⁺² activados por bajo voltaje y es modulador de la actividad de FAAH (hidrolasa de amidas de ácidos grasos), las cuales son vías responsables de la percepción del dolor, sinapsis y excitabilidad neuronal (Massi et al., 2008; Aragona et al., 2009). Esta interacción simultánea sobre estas vías implicadas contribuye a su perfil antinociceptivo y neuroprotector, posicionando al CBD como un candidato de interés en el abordaje de patologías asociadas al dolor crónico (Pisanti et al., 2017; Almeida & Devi 2020).

2. Objetivos

2.1. Objetivo General

Evaluar el efecto protector del CBD contra la neuropatía periférica inducida por el antimicrobiano levofloxacin en un modelo experimental en ratas Wistar.

2.2. Objetivos Específicos

Establecer un modelo experimental preclínico para el estudio de la neuropatía periférica inducida por levofloxacin en ratas Wistar.

Evaluar el efecto protector del CBD contra las alteraciones sensoriales inducidas por el antimicrobiano levofloxacin en ratas Wistar.

Describir el papel del estrés oxidativo como mecanismo mediador de la neurotoxicidad periférica inducidos por la levofloxacin en ratas Wistar y la protección asociada a la combinación con el CBD.

3. Metodología de la investigación

Se emplearon 52 ratas Wistar (*Rattus norvegicus*) machos con un peso inicial de 180 ± 10 g y una edad comprendida entre seis y siete semanas. Los animales se usaron y se alojaron en el Bioterio de la Facultad de Salud de la Universidad Industrial de Santander, ubicado en el Parque Tecnológico Guatiguará. Dicho bioterio fue adecuado según lo dispuesto en la ley 84 de 1989, el título V de la resolución 8430 de 1993 y siguiendo los lineamientos de la Guía para el cuidado y

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

uso de animales de laboratorio de la Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos (National Academies Press (US), 2011). Los protocolos ejecutados se sometieron a evaluación, obteniendo la aprobación por parte del Comité de Ética en Investigación Científica (CEINCI) de la UIS el 15 de marzo del 2024 en el acta Acta N° 08, así como su seguimiento, de acuerdo con lo dispuesto en el artículo 26 de la ley 84 de 1989.

Las diferentes fases del trabajo de investigación se detallan en la Figura 4.

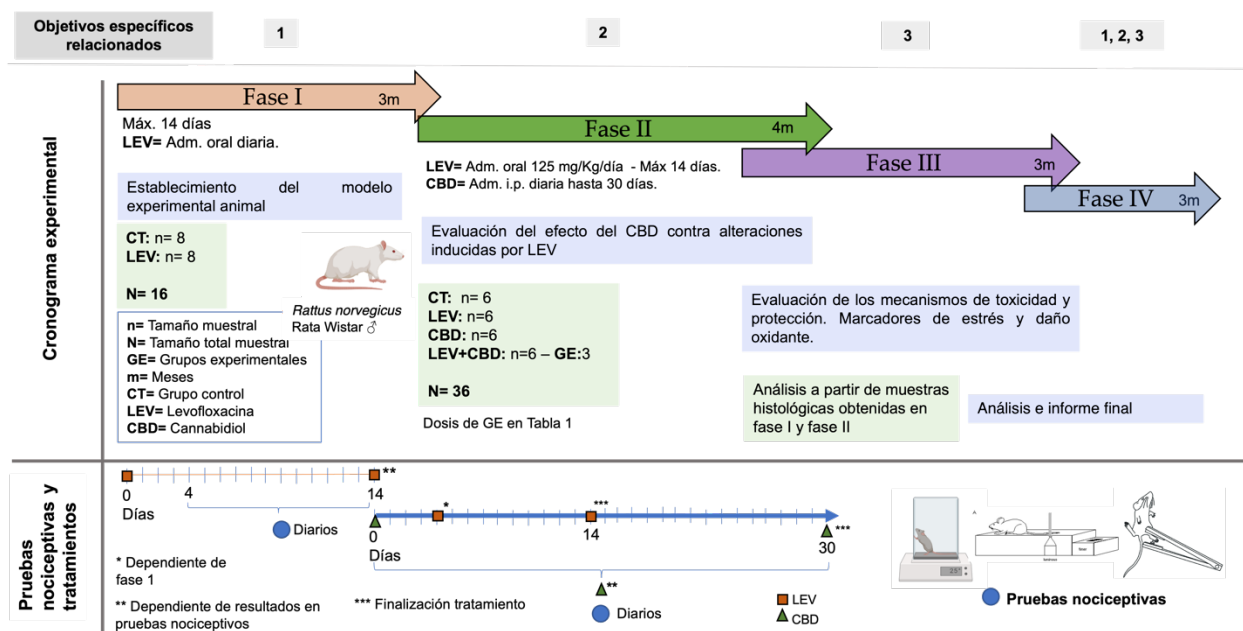


Figura 4. Fases del trabajo de investigación. Cada fase tuvo una duración específica expresada en meses (m). Las pruebas nociceptivas fueron tomadas diariamente a lo largo del tratamiento. En la fase 1, fueron tomadas a partir del día 4 de tratamiento. Tamaño total muestra (N), tamaño muestral (n), administración intraperitoneal (i.p.), grupos experimentales (GE), control (CT), levofloxacina (LEV), CBD (cannabidiol), levofloxacina+CBD (LEV+CBD)

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

3.1. Establecimiento del modelo experimental animal

Se estableció un esquema de administración diseñado para asegurar la inducción de toxicidad y que al mismo tiempo resultara representativo en un contexto clínico (Kashida & Kato, 1997). Se utilizó una dosis de levofloxacina de 125 mg/kg/día por vía oral durante un periodo de 5 a 14 días, equivalente a la empleada en humanos (20 mg/kg/día durante 5–14 días en el tratamiento de neumonía adquirida en la comunidad) (Lynch III, File Jr & Zhanel, 2006).

En esta primera fase se trabajó con ratas Wistar macho (*Rattus norvegicus*), distribuidas en dos grupos experimentales (n=8 por grupo, N=16): El grupo Control (CT) se administró con el vehículo de la levofloxacina (solución salina isotónica, SSI) por vía oral, mientras que al grupo Levofloxacina (LEV) se le administró levofloxacina (500 mg, comprimidos; Laboratorios Laproff S.A., Colombia) también por vía oral. La administración del tratamiento se realizó mediante gavage gástrico. Para ello, los animales fueron sujetados con cuidado, inmovilizando suavemente el cuerpo y la cabeza con el fin de reducir el riesgo de movimientos bruscos. Posteriormente, se introdujo una sonda metálica curva y roma acoplada a una jeringa, la cual se deslizó con precaución a través de la cavidad oral hasta alcanzar el estómago. Una vez en posición, se administró el volumen previamente calculado de la solución, retirando la sonda lentamente al finalizar.

La evaluación de los umbrales nociceptivos se inició a partir del cuarto día de tratamiento y se realizó mediante pruebas comportamentales sensoriales de presión en pata, presión en cola y placa caliente (Kim et al., 2018). Para ello se emplearon los equipos Randall-Selitto PANLAB modelo LE7306 y Hot Plate PANLAB modelo LE7406 (Panlab, S.L.U., Barcelona, España). En el ensayo de placa caliente, los animales fueron expuestos a una superficie con temperatura

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

controlada (50–52 °C) y se registró el tiempo de latencia hasta la respuesta nociceptiva. En la prueba de presión en cola y presión en pata se aplicó una fuerza creciente y controlada, registrando la latencia hasta la respuesta (Carter & Shieh, 2015). Para garantizar el bienestar animal, se establecieron valores máximos de corte: 180 g de presión en pata, 50 °C y 60 s en placa caliente, y 10 s en la prueba de presión en cola (Carter & Shieh, 2015). Las mediciones se realizaron por triplicado, con intervalos de 10 minutos entre cada réplica, y se expresaron los datos como el valor de la media \pm DE. Todas las sesiones fueron grabadas en video con el fin de validar posteriormente la exactitud de los registros. El esquema de administración y las evaluaciones descritas en la Figura 4 permitieron establecer el número de días en los que se observaron disminuciones significativas en los umbrales nociceptivos, confirmando el establecimiento del modelo experimental.

Las ratas se eutanasiaron anestesiando de manera profunda con Ketamina (90 mg/Kg) + Xilacina (15 mg/Kg) vía intraperitoneal (ip) y posterior sangrado por la aurícula derecha. Se recolectó la sangre mediante punción cardíaca en el ventrículo izquierdo, utilizando aguja y jeringa bajo condiciones de anestesia profunda con el fin de realizar hemogramas y determinar los marcadores de daño de la función renal mediante el análisis de la creatinina en plasma y la determinación del nitrógeno ureico en sangre (BUN). Además, se realizó la determinación de daño hepático, mediante la determinación de aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT) y fosfatasa alcalina (ALP), mediante el uso de kits Labtest Diagnóstica S.A, Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil.

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

3.1.1. Determinación de la AST y ALT de modo cinético

La actividad enzimática de AST y ALT se determinó mediante un ensayo cinético espectrofotométrico, basado en la disminución de la absorbancia a 340 nm, atribuida a la oxidación del NADH. Se emplearon reactivos comerciales provistos en kit de Labtest Diagnóstica S.A, Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil, los cuales contenían los componentes necesarios para cada determinación.

Para la medición de AST, se utilizaron 4 ml del Reactivo 1, compuesto por tampón Tris 105 mmol/L, L-aspartato 330 mmol/L, malato deshidrogenasa (MDH) ≥ 825 U/L, lactato deshidrogenasa (LDH) ≥ 1200 U/L y azida sódica 0,095%, y 1 ml del Reactivo 2, que contenía tampón Tris 20 mmol/L, NADH 1320 $\mu\text{mol/L}$, α -cetoglutarato 66 mmol/L y azida sódica 0,095%. Para la medición de ALT, también se utilizaron 4 mL del Reactivo 1 y 1 ml del Reactivo 2, pero con distinta composición. El Reactivo 1 contenía tampón Tris 132,5 mmol/L, L-alanina 687,5 mmol/L, LDH ≥ 2300 U/L y azida sódica 0,095%, mientras que el Reactivo 2 incluía tampón Tris 20 mmol/L, NADH 1320 $\mu\text{mol/L}$, α -cetoglutarato 82,5 mmol/L y azida sódica 0,095%.

A cada pozo se agregó 200 μl de la solución previamente preparada y 20 μl de muestra. Se incubó la placa a 37 °C durante 1 minuto. Se registró la absorbancia inicial (A_1) a una longitud de onda de 340 nm y transcurridos 2 minutos, se registró nuevamente la absorbancia (A_2).

Los cálculos de la medición se realizaron utilizando la fórmula:

$$\Delta A/\text{minuto Muestra} = (A_1 - A_2)/2 * 1746$$

3.1.2. Determinación de Creatina Quinasa (CK-MB)

La actividad de la creatina quinasa (CK) se cuantificó mediante un ensayo cinético espectrofotométrico utilizando kits comerciales de Labtest Diagnóstica S.A, Lagoa Santa, Minas

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

Gerai, Brasil. Para la medición, se emplearon 4 ml de Reactivo 1 (Tris 105 mmol/L, L-aspartato 330 mmol/L, MDH \geq 825 U/L, LDH \geq 1200 U/L, azida sódica 0,095%) y 1 ml de Reactivo 2 (Tris 20 mmol/L, NADH 1320 μ mol/L, α -cetoglutarato 66 mmol/L, azida sódica 0,095%). Se añadieron 200 μ l de la mezcla y 10 μ l de muestra a cada pozo, incubándose a 37°C durante 5 minutos, registrándose dos absorbancias a 340 nm con un intervalo cinético de 5 min. Los resultados se calcularon con la fórmula:

$$\text{Actividad de la CK-MB (U/L)} = \Delta A \text{ muestra} / \Delta A \text{ calibrador} * 79 \text{ U/L}$$

3.1.3. Determinación de Nitrógeno ureico en sangre

La medición de nitrógeno ureico se llevó a cabo mediante la preparación de una mezcla de cuatro partes de Reactivo 1, el cual contenía tampón 20 mmol/L (pH 10,0), 2-cetoglutarato 16 mmol/L, NADH 300 μ mol/L, azida sódica 30,8 mmol/L, con una parte de Reactivo 2, compuesto por tampón 380 mmol/L (pH 8,0), ureasa 50,000 U/L, GLDH 3750 U/L, azida sódica 14,6 mmol/L. Se añadieron 200 μ l de la mezcla y 2 μ l de muestra a cada pozo, incubándose a 37°C durante 1 minuto, registrándose dos absorbancias a 340 nm con un intervalo cinético de 1 min.

Los resultados de la medición fueron obtenidos mediante el uso de la siguiente fórmula:

$$\text{Úrea (mg/dL)} = \Delta A \text{ muestra} / \Delta A \text{ estándar} * 70$$

3.1.4. Determinación de fosfatasa alcalina en modo cinético

La medición se realizó mediante la preparación de una mezcla compuesta por cuatro partes de Reactivo 1, que contenía tampón a pH 10,4, HEDTA 2,0 mmol/L, sulfato de zinc 1,2 mmol/L, acetato de magnesio 2,5 mmol/L y azida sódica 8 mmol/L, y una parte de Reactivo 2, compuesto por p-Nitrofenilfosfato 60 mmol/L y fenol 50 mmol/L. A cada pozo se añadieron 200 μ l de la

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

mezcla y 2 µl de muestra, incubando a 37°C durante 1 min. Posteriormente, se registraron dos absorbancias a 405 nm con un intervalo cinético de 2 min. Los resultados se calcularon utilizando la fórmula:

$$\Delta A \text{ Test} = (A1 - A2)/2 * 2764$$

3.1.5. Determinación de creatinina K

Para la medición de creatinina K, se preparó una mezcla utilizando 4 ml de Reactivo 1 (Hidróxido de sodio 200 mmol/L) y 1 ml de Reactivo 2 (Ácido pícrico 22,2 mmol/L). A cada pozo se añadieron 200 µl de la solución preparada y 20 µl de muestra, incubándose a 37°C durante 30 s. Posteriormente, se registraron dos absorbancias a 510 nm con un intervalo cinético de 1 min. Los resultados de la medición se determinaron utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Creatinina} = \Delta A \text{ muestra} / \Delta A \text{ estándar} * 4 \text{ mg/dL}$$

3.2. Evaluación del efecto del CBD contra alteraciones inducidas por levofloxacin

Después de haber establecido el modelo de neurotoxicidad periférica inducida por levofloxacin, se incorporaron los tratamientos con CBD (Biominales Pharma, S.A.S). Se propuso un esquema de administración conformado por 6 grupos experimentales, cada uno con n=6 animales. Al primer grupo, denominado control (CT), se administró SSI oral como vehículo de la levofloxacin de acuerdo con el esquema establecido. También se administró vía intraperitoneal el vehículo del CBD (Tween 80 al 2% en SSI) según la metodología empleada por Silva-Cardoso et al. (2021). Los grupos experimentales son descritos en la Tabla 1. Además, los animales fueron sometidos a las pruebas comportamentales sensoriales y se eutanasiaron al final

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

del tratamiento, obteniéndose sangre y nervios ciáticos para los estudios de los mecanismos de daño y protección.

Tabla 1. Grupos experimentales según esquema de administración.

Nombre del grupo	Nomenclatura	Descripción de administración
CONTROL**	CT	Administración vehículo de levofloxacina** y vehículo de CBD*
LEVOFLOXACINA**	LEV	Administración de LEV** y vehículo del CBD*
CANNABIDIOL 30*	CBD30	Administración vehículo de levofloxacina** y CBD 30 mg/Kg/día*
CANNABIDIOL 0.3* + LEVOFLOXACINA**	CBD0.3+LEV	Co-administración de CBD 0.3 mg/Kg/día* y LEV**
CANNABIDIOL3* + LEVOFLOXACINA**	CBD3+LEV	Co-administración de CBD 3 mg/Kg/día* y LEV**
CANNABIDIOL30* + LEVOFLOXACINA**	CBD30+LEV	Co-administración de CBD 30 mg/Kg/día* y LEV**

* Administración vía intraperitoneal

** Administración vía oral de 125 mg/Kg/día de LEV.

3.3. Evaluación de los mecanismos de toxicidad y protección

Para la obtención de tejidos para análisis histopatológicos fueron perfundidos Los nervios ciáticos de las ratas fueron obtenidos después de ser tratadas y eutanasiadas. Un nervio completo fue lavado con solución salina estéril (SSI) y formalina neutra al 10%, luego fue homogenizado en una solución inhibidora de proteasas. Para la obtención del homogenado de tejido, se pesaron 100 mg del tejido extraído y se añadió 1 ml de la solución inhibidora de proteasas. La muestra fue sometida a sonicación al 40% de intensidad durante 1 min, con pulsos cada 5 s para facilitar la lisis celular. Posteriormente, el homogenado fue centrifugado a 13,000 g durante 10 minutos a 4°C. El sobrenadante resultante fue cuidadosamente recolectado y almacenado a -80°C.

El nervio restante se fijó en formaldehído al 4% en PBS durante 24 horas a temperatura ambiente. Posteriormente, se realizó un lavado post-fijación en agua destilada (2×10 min) para

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

eliminar el exceso de fijador. las muestras fueron procesadas en un tren de solventes utilizando etanol de diferentes concentraciones (70%, 90% y absoluto), xilol-etanol y xilol con tiempos de inmersión de 20 min en cada baño. La inclusión se llevó a cabo en parafina histológica, manteniendo la temperatura de inclusión entre 56 y 58 °C. Los bloques obtenidos se seccionaron en un micrótopo rotatorio a un espesor de 3.5 μm , en orientaciones tanto transversales como longitudinales. Los cortes fueron montados en láminas portaobjetos y posteriormente horneados a 60 °C durante 30 minutos, con el fin de asegurar su adecuada adhesión y garantizar la calidad en la evaluación histológica.

3.4. Evaluación de marcadores de estrés y daño oxidante en homogenado de nervio ciático.

A partir del homogenado previamente obtenido y almacenado a -80 °C, se llevó a cabo la cuantificación de proteínas totales empleando el método de Bradford. Para esto, se utilizó albúmina sérica bovina (BSA) como estándar de referencia con un rango de concentraciones de 0 a 2.0 mg/ml para construir una curva estándar para la interpolación de las concentraciones. Las mediciones de absorbancia se realizaron a una longitud de onda de 595 nm. Posteriormente, se procedió a la realización de los bioensayos correspondientes, cuya metodología se describe en las siguientes secciones.

3.4.1. Cuantificación de la peroxidación lipídica mediante determinación de 4-HNE

Se evaluó la peroxidación lipídica como marcador de daño oxidante, mediante la medición de la reacción del 4-hidroxi-2-nonenal (4-HNE) con el N-metil-2-fenilindol, los cuales forman un cromóforo estable a 586nm (Gerard-Monnier et al.,1998). Esta determinación de 4-HNE, se llevó a cabo a partir de la preparación de una solución de 1-metil-2-fenilindol (1M2F) a una

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

concentración de 15.4 mM, disuelta en una solución de acetonitrilo:metanol en proporción 3:1.

Para la construcción de la curva estándar, se preparó 1 ml de cada concentración de tetrametoxipropano (TMPO), utilizando 0.2 ml por ensayo (Tabla 2).

Tabla 2. Preparación de curva estándar de TMPO para análisis de 4-HNE

# Estándar	4-HNE (μM)	nmoles 4-HNE /0.2 mL (μM)	nmoles 4-HNE /mL (μM)	“StockB” TMPO	Amortiguador Fosfato de Potasio 20 mM pH 7.4
0	0	0	0	0 μl	1000 μl
1	0.7386	0.14772	0.7386	10 μl	990 μl
2	1.4772	0.29544	1.4772	20 μl	980 μl
3	2.9544	0.59088	2.9544	40 μl	960 μl
4	5.9088	1.18176	5.9088	80 μl	920 μl

Se preparó además una solución de ácido metanosulfónico concentrado (15.608 M) suplementada con hierro (III) a una concentración de 34 μM . Las mezclas se realizaron y se incubaron a 45 °C durante 40 minutos como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3. Cantidades para preparación de soluciones para la determinación de 4-HNE

	Blanco	Tubo estándar	Tubo muestra	Blanco de muestra
A. fosfato 50mM pH 7.4	0.2 ml	--	--	--
Estándares	--	0.2 ml	--	--
* Muestra (1 mg de proteína)	--	--	0.2 ml	0.2 ml
Solución de 1M2F (en acetonitrilo:metanol; 3:1)	0.65 ml	0.65 ml	0.65 ml	--
Ácido metanesulfónico con Fe (III)	0.15 ml	0.15 ml	0.15 ml	0.15 ml
Sol. acetonitrilo:metanol (3:1)	--	--	--	0.65 ml
VOLUMEN TOTAL	1ml	1ml	1ml	1ml

Después de la incubación, se determinó la concentración de proteínas en cada muestra con el fin de normalizar los resultados de 4-HNE por mg de proteína. Las muestras se centrifugaron

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

posteriormente a 3,000 g durante 5 min. La absorbancia fue medida a 586 nm frente a la curva de estándares de TMPO.

3.4.2. Determinación de GSH total

La cuantificación de glutatión se llevó a cabo siguiendo un protocolo adaptado para microplacas de 96 pozos y espectrofotometría, según la metodología modificada de Vandeputte et al. (1994). Todas las soluciones se prepararon en tampón KPE 0,1 M, pH 7,5. Las muestras y estándares se mantuvieron en hielo durante el procedimiento, y los reactivos protegidos de la luz, dado que la exposición lumínica favorece la oxidación del GSH y la reducción del 5,5'-ditio-bis(ácido 2-nitrobenzoico) (DTNB).

Para la cuantificación de GSH, se añadieron 20 μ l de tampón KPE al pozo blanco (A1), 20 μ l de cada estándar en los pocillos B-H de la columna 1, y 20 μ l de muestra en los pocillos A-H de las columnas 2 y 3. Posteriormente, se preparó una mezcla fresca de DTNB y glutatión reductasa en partes iguales, de la cual se añadieron 120 μ l a cada pozo. Tras 30 s, se agregaron 60 μ l de β -NADPH. La absorbancia se midió inmediatamente a 412 nm utilizando un lector de microplacas (Varioskan LUX, ThermoFisher), con lecturas cada 30 s durante 2 min (cinco mediciones en total). La velocidad de formación de ácido 2-nitro-5-tiobenzoico (TNB) se calculó con base en la pendiente de la curva de absorbancia. La concentración total de GSH en las muestras fue determinada mediante interpolación en la curva estándar empleando siete estándares (Estándares 1-7, con concentraciones respectivas de 0.412 μ M, 0.825 μ M, 1.65 μ M, 3.3 μ M, 6.6 μ M, 13.2 μ M, 26.4 μ M), utilizando un análisis de regresión lineal. Los valores de absorbancia obtenidos para cada muestra fueron aplicados a la ecuación de la recta generada a partir de la curva

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

patrón, permitiendo así el cálculo preciso de las concentraciones de GSH expresadas como μmol por mg de proteína.

3.4.3. Determinación de la actividad enzimática de catalasa

La determinación de la actividad de la enzima antioxidante catalasa (CAT) se realizó añadiendo 50 μl del homogenado (muestra de tejido) a 1450 μl de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) a una concentración de 30 mM, en una celda de cuarzo de 10 mm. La actividad enzimática se evaluó midiendo el cambio en la absorbancia a 240 nm durante 30 segundos, registrando la cinética cada 15 segundos en el espectrofotómetro CLARIOstar Plus, BMG LABTECH. Esta medición se basa en la descomposición del H_2O_2 catalizada por la CAT, según el método descrito por Aebi (1984).

3.4.4. Determinación de la actividad enzimática de la superóxido dismutasa

Además, se determinó la actividad de la superóxido dismutasa (SOD) donde el principio de la determinación es la reducción del nitroazul de tetrazolio (NBT) a formazán por el radical $\text{O}_2^{\cdot-}$. El $\text{O}_2^{\cdot-}$ es producido mediante la reacción de la xantina oxidasa (XO). Debido a que la SOD presente en la muestra evita la reducción del NBT por el $\text{O}_2^{\cdot-}$, su actividad se obtuvo cuantificando por colorimetría a 560 nm el formazán generado, el cual se expresa como unidades de SOD/mg de proteína (Oberley y Spitz, 1984).

Para esto, se preparó la mezcla de reacción compuesta por 5 ml de xantina a una concentración final de 3 mM, 1.5 ml de EDTA a 0.6 mM, 1.5 ml de nitroazul de tetrazolio (NBT) a 600 μM , 0.9 ml de carbonato de sodio (Na_2CO_3) a 400 mM y 0.45 ml de albúmina sérica bovina (BSA) al 0.1%, para un volumen total de 9.35 ml.

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

Además, se preparó una solución de XOD mediante la incorporación de 10 μl de la XOD en 320 μl de sulfato de amonio 2 M para alcanzar una concentración final en el ensayo de 12.5 U/L.

Las muestras se diluyeron en amortiguador de fosfato de sodio 50 mM. A cada pozo se le añadieron 166 μl de mezcla de reacción, 33 μl de amortiguador y 10 μl de solución de XOD, incubando a 27 °C durante 15 minutos. Para detener la reacción, se agregó 66 μl de CuCl_2 0.8 mM. La densidad óptica (DO) se leyó a 560 nm en un lector de microplacas (Varioskan LUX, ThermoFisher), utilizando la mezcla de reacción como blanco general para validar la generación de superóxido.

3.5. Análisis histológico

Los cortes histológicos de 3.5 μm montados en laminillas fueron desparafinados a 60 °C durante 30 minutos y posteriormente hidratados mediante un tren de solventes compuesto por xilol, xilol-etanol, etanol absoluto, etanol al 90 %, etanol al 70 % y agua destilada. A continuación, se realizó la coloración con hematoxilina y eosina (H&E), con el fin de evaluar el daño neuronal en el nervio ciático, permitiendo la identificación de patrones generales de respuesta tisular (Rodríguez-Jurado, 2009). Las imágenes histológicas obtenidas fueron analizadas utilizando el software ImageJ, versión 1.5.4 (NIH, EE. UU.), mediante el cual se cuantificaron parámetros morfométricos como la densidad axonal, densidad de células de Schwann y de fibroblastos, longitud del perineuro, proporción de células de Schwann respecto a las fibras nerviosas y área total del fascículo.

3.6. Análisis estadístico

Todos los resultados se expresaron como el promedio \pm DE (desviación estándar) de las observaciones. Para la primera fase experimental, en la que se compararon únicamente el grupo

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

tratado con levofloxacin y el grupo control, se utilizó la prueba t de Student no pareada. En los análisis posteriores, que involucraron más de dos grupos, los valores se procesaron mediante análisis de varianza (ANOVA) de una vía, seguido de un test de comparaciones múltiples de Bonferroni. Se consideraron diferencias significativas los valores $p \leq 0.05$. El análisis se llevó a cabo con GraphPad Prism 9.5.1 (San Diego, CA, United States).

4. Resultados

4.1. Inducción de neuropatía periférica

Se estableció un esquema experimental de administración de levofloxacin (LEV) a una dosis de 125 mg/kg/día por vía oral durante siete días consecutivos. La evaluación de los umbrales nociceptivos se inició a partir del cuarto día de tratamiento con el objetivo de detectar manifestaciones de alodinia o hiperalgesia asociadas a la administración del antibiótico. En la Figura 5 se presentan imágenes de los analgesímetros empleados para la realización de las pruebas nociceptivas, evaluando la sensibilidad al estímulo mecánico y térmico en el modelo experimental.

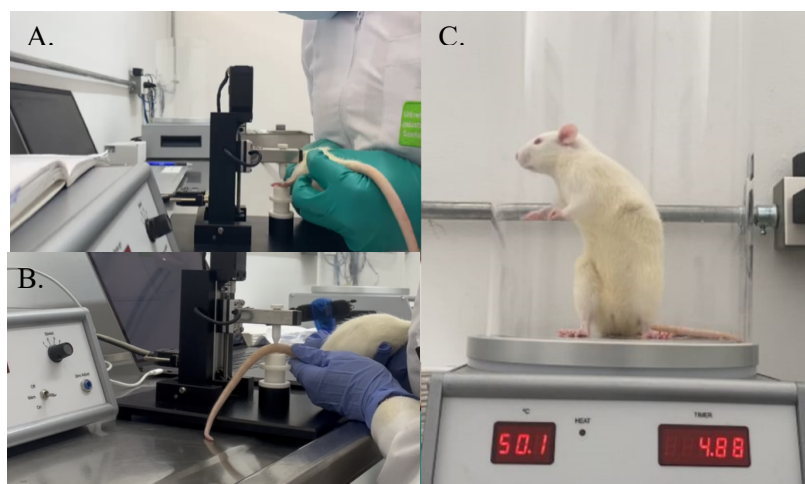


Figura 5. Pruebas nociceptivas empleadas en el estudio. A. Prueba de presión en pata, B. Prueba de presión en cola, C. Prueba de placa caliente.

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

Al finalizar el periodo de tratamiento (día 7), se observaron diferencias estadísticamente significativas en todas las pruebas nociceptivas evaluadas, en comparación con el grupo control tratado con SSI (CT). En las Figuras 6A y 6B, se evidencia una reducción progresiva en los umbrales de retirada tanto en la prueba de presión aplicada a la pata como en la prueba de presión en la cola. Esta disminución sugiere un incremento en la sensibilidad al estímulo mecánico. El análisis estadístico demostró una diferencia significativa entre los grupos el día 8, donde el grupo tratado con LEV presentó umbrales de retirada significativamente menores respecto al grupo CT ($p < 0.05$), indicando una mayor sensibilidad al estímulo nociceptivo.

Asimismo, en la Figura 6C se representa la prueba de placa caliente, en la cual se observó una disminución en el tiempo de respuesta en el grupo LEV a lo largo del tratamiento. Esta reducción en la latencia sugiere un aumento en la sensibilidad térmica, compatible con un estado de hiperalgesia térmica inducido por la administración de levofloxacin. No obstante, los resultados de esta prueba no evidenciaron una tendencia tan pronunciada como la observada en las mediciones de presión en pata y presión en cola entre los grupos evaluados.

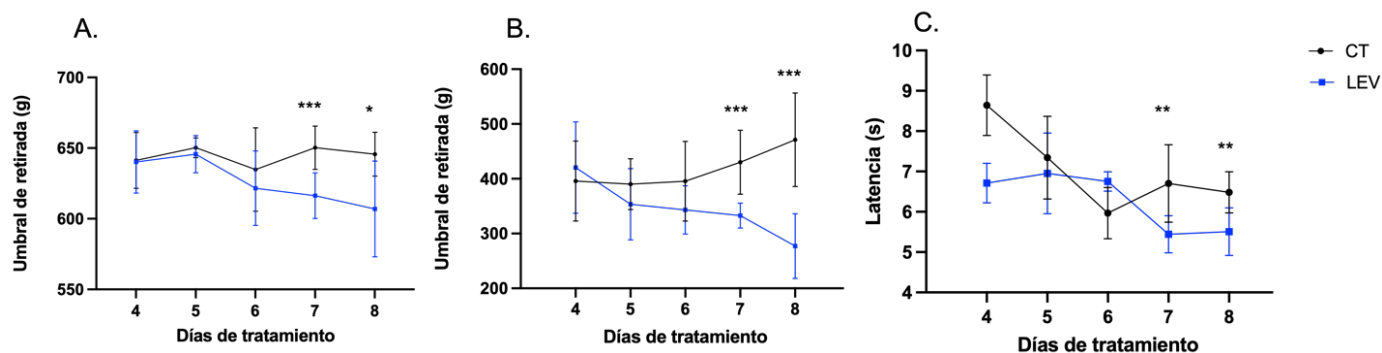


Figura 6. Pruebas nociceptivas durante cuatro días de tratamiento registradas a partir del día 4 del tratamiento con LEV. A. Prueba de presión en cola. B. Prueba de presión en pata. C. Prueba de

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

placa caliente. El umbral de retirada se cuantificó en gramos para las pruebas de presión de pata y cola, y en segundos para la prueba de placa caliente. El análisis se realizó usando un t-test no pareado. n=8. Control (CT), Levofloxacin (LEV). *p-valor < 0.05; ** p-valor < 0.01; *** p-valor < 0.001.

4.1.1. Parámetros bioquímicos y hematológicos

A partir del plasma obtenido, se llevó a cabo la evaluación de marcadores bioquímicos (Tabla 4) y la realización de hemogramas (Tabla 5). Para la función renal, se cuantificaron los niveles de creatinina plasmática y nitrógeno ureico en sangre (BUN). En cuanto a la función hepática, se determinaron las concentraciones de las enzimas aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT), fosfatasa alcalina (ALP) y la creatina quinasa MB (CK-MB). Los resultados obtenidos no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales en los niveles de creatinina, AST, ALT, ALP y CK-MB. No obstante, se observó una diferencia significativa en los valores de BUN, lo cual podría sugerir una posible alteración en la función renal bajo las condiciones evaluadas.

Tabla 4. Parámetros bioquímicos de toxicidad en ratas Wistar tratadas con levofloxacin.

Valores promedio encontrados en los parámetros bioquímicos en el grupo Control (CT) y Levofloxacin (LEV) relacionados con valores normales de referencia encontrados en la literatura para ratas Wistar.

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

Parámetros	Creatinina	BUN	CK-MB	ALT	AST	ALP
	mg/dL			U/L		
CT	0.411 ± 0.135	24.907 ± 14.293*	158.139 ± 41.704	34.010 ± 9.537	74.353 ± 25.463	148.599 ± 36.574
LEV	0.813 ± 0.678	40.381 ± 0.678*	183.916 ± 20.678	40.229 ± 0.678	72.622 ± 24.171	124.034 ± 28.246
Rango de valores de referencia	0.28 - 0.56	26.39 - 48.93	61 - 153	38.8 - 56.3	76.29 - 121.31	136.28 - 208.51

BUN: nitrógeno uréico, CK-MB: creatina quinasa, ALT: alanina aminotransferasa, AST: aspartato aminotransferasa, ALP: fosfatasa alcalina. Los datos se expresan como media ± DE y se analizaron mediante un t-test no pareado. n= 8. * p-valor < 0.05.

Por su parte, el análisis de los hemogramas (Tabla 5) no evidenció diferencias significativas entre el grupo control y el grupo tratado, lo que sugiere que la intervención no generó alteraciones hematológicas detectables en los parámetros evaluados.

Tabla 5. Parámetros hematológicos en ratas Wistar tratadas con levofloxacina.

Parámetro	Mon #	Lym #	Neu #	Eos #	Bas #	PLT
	10 ⁹ /L					
CT	0.638 ±0.194	4.253 ±1.856	1.332 ±0.282	0.023 ±0.013	0.011 ±0.009	760.875 ±240.107
LEV	0.711 ±0.357	7.006 ±3.593	1.456 ±0.679	0.03 ±0.021	0.011 ±0.008	741.5 ±94.648
Rango de valores de referencia	0.19 -1.1	1.8 - 8.3	0.5 - 5.5	0.03 - 0.6	0.00 - 0.3	402-963
Parámetro	RBC	HCT	MCV	HGB	WBC	
	10 ¹² /L	%	fL	g/dL	10 ⁹ /L	
CT	6.392 ±0.221	47.625 ±3.105	74.5 ±3.705	15.062 ±0.42	6.26 ±2.141	
LEV	6.691 ±1.451	48.662 ±9.191	73.075 ±1.893	14.487 ±1.783	9.215 ±4.58	
Rango de valores de referencia	6.34 - 7.79	39.4 -51.04	71.6 - 89.8	12.3 - 18.8	3.2- 9.5	

Valores promedio encontrados en los parámetros hematológicos en el grupo Control (CT) y Levofloxacina (LEV) relacionados con valores normales de referencia encontrados en la literatura para ratas Wistar. Mon: Monocitos, Lym: Linfocitos, Neu: Neutrófilos, Eos: Eosinófilos, Bas: Basófilos, PLT: Plaquetas, RBC: Glóbulos rojos, HCT: Hematocrito, MCV: Volumen corpuscular

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

medio, HGB: Hemoglobina, WBC: Glóbulos blancos. Los datos se expresan como media \pm DE y se analizaron mediante un t-test no pareado. n=8.

4.2. Tratamiento de protección con CBD frente a la toxicidad inducida por la levofloxacin

4.2.1. Pruebas nociceptivas

Se evaluó la sensibilidad mecánica y térmica en las ratas Wistar y el efecto de la levofloxacin en esta, así como el posible efecto modulador del CBD administrado a diferentes dosis durante siete días. Las gráficas muestran la comparación entre distintos grupos experimentales, donde se evalúa el umbral de retirada tanto de la cola como de la pata y el tiempo de latencia de permanencia en la placa caliente, relacionada con un efecto inducido por el tratamiento con levofloxacin y el posible efecto protector del CBD y sus diferentes dosis (Figura 7-9).

Presión en cola

El umbral de retirada fue determinado como indicador de la sensibilidad mecánica mediante la aplicación de presión en la cola de las ratas. En la Figura 7 se muestran los valores obtenidos en g para cada grupo experimental. El grupo control presentó el umbral más alto, indicando una respuesta nociceptiva normal. En contraste, el grupo tratado con levofloxacin evidenció una reducción significativa en dicho umbral, lo que refleja un incremento en la sensibilidad mecánica. Los grupos que recibieron tratamientos combinados con CBD mostraron una recuperación progresiva del umbral de retirada en comparación con el grupo LEV, dependiente de la dosis de CBD, aunque no todos alcanzaron los niveles del grupo control. Asimismo, el grupo tratado únicamente con CBD 30mg/kg/día presentó valores de umbral de retirada cercanos a los

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

valores basales registrados en el grupo control. Estas diferencias sugieren un posible efecto protector de los tratamientos con CBD frente a la sensibilización inducida por levofloxacina.

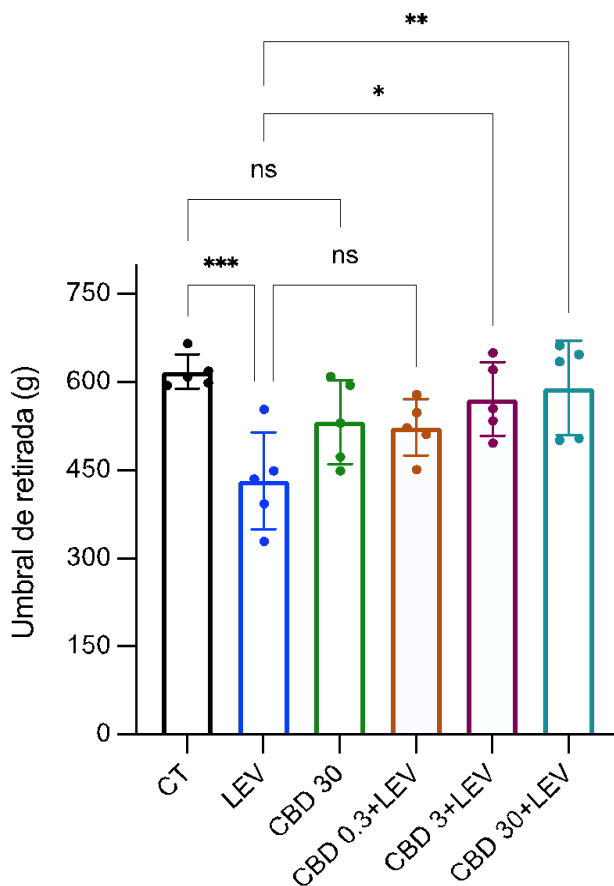


Figura 7. Valores de umbral de retirada de la cola (g) en ratas Wistar tratadas con levofloxacina y/o CBD. El análisis entre grupos se realizó usando ANOVA de una vía seguido de un test de comparaciones múltiples de Bonferroni. n=6. Control (CT), Levofloxacina (LEV), CBD 30mg/kg/día (CBD30), CBD 0.3mg/kg/día + levofloxacina (CBD 0.3 + LEV), CBD 3mg/kg/día + levofloxacina (CBD 3 + LEV), CBD 30mg/kg/día + levofloxacina (CBD 30 + LEV). * p-valor < 0.05; ** p-valor < 0.01; *** p-valor < 0.001.

Presión en pata

La evaluación de la sensibilidad mecánica se realizó también mediante la aplicación de presión sobre la extremidad posterior de los animales, permitiendo registrar las variaciones en la respuesta nociceptiva. En la Figura 8 se ilustran los valores en g correspondientes al umbral de retirada evaluados mediante la aplicación de presión en la pata trasera. El grupo control registró los umbrales más elevados, reflejando una sensibilidad nociceptiva basal. Por el contrario, el grupo tratado con levofloxacina mostró una disminución significativa en dicho umbral, evidenciando un incremento en la hiperalgesia mecánica. Por su parte, los grupos que recibieron tratamientos combinados con CBD mostraron una recuperación progresiva de los umbrales de retirada en relación con el grupo que recibió solo levofloxacina; sin embargo, en varios casos, estos valores no lograron equipararse completamente a los niveles observados en el grupo control. En el grupo tratado exclusivamente con CBD a una dosis de 30 mg/kg/día, los valores del umbral de retirada se mantuvieron cercanos a los niveles basales observados en el grupo control.

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

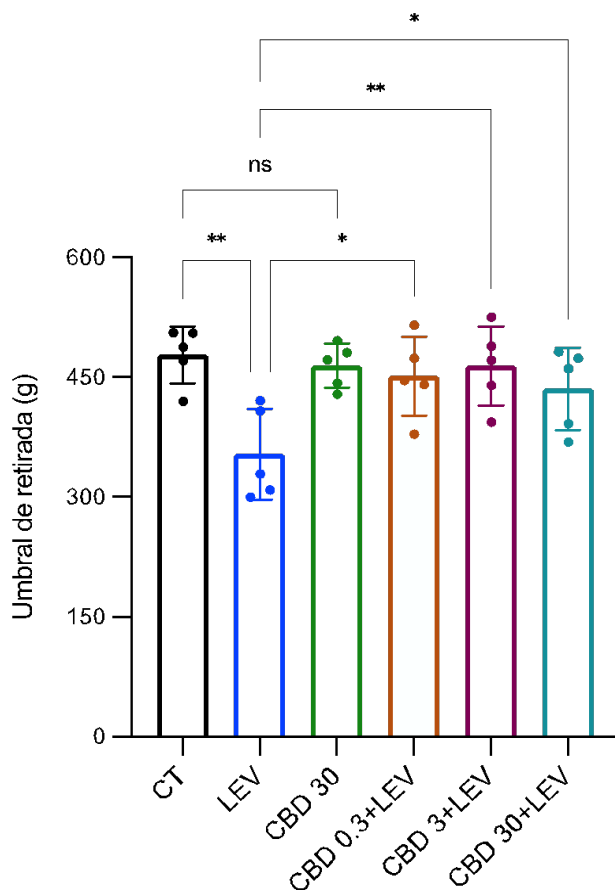


Figura 8. Valores de umbral de retirada de la pata (g) en ratas Wistar tratadas con levofloxacina y/o CBD. El análisis entre grupos se realizó usando ANOVA de una vía seguido de un test de comparaciones múltiples de Bonferroni. $n=6$. Control (CT), Levofloxacina (LEV), CBD 30mg/kg/día (CBD30), CBD 0.3mg/kg/día + levofloxacina (CBD 0.3 + LEV), CBD 3mg/kg/día + levofloxacina (CBD 3 + LEV), CBD 30mg/kg/día + levofloxacina (CBD 30 + LEV). * p-valor < 0.05 ; ** p-valor < 0.01 .

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

Placa caliente

Se empleó la prueba de placa caliente para medir el tiempo de latencia, definido como el intervalo entre el inicio del estímulo térmico y la respuesta nociceptiva del animal. En la Figura 9 se presentan los valores correspondientes al tiempo de latencia en la prueba de placa caliente. El grupo control mostró los tiempos de latencia más prolongados, reflejando una respuesta nociceptiva basal. En contraste, el grupo tratado con levofloxacin exhibió una disminución significativa en el tiempo de latencia, indicando un aumento en la sensibilidad nociceptiva térmica. Por otro lado, los grupos que recibieron tratamientos combinados con CBD mostraron una recuperación progresiva de los tiempos de latencia en comparación con el grupo tratado únicamente con levofloxacin (Figura 9). En particular, los animales que recibieron CBD a una dosis de 30 mg/kg/día, así como aquellos cotratados con levofloxacin y CBD a la misma dosis, mostraron tiempos de latencia cercanos a los valores basales registrados en el grupo control.

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

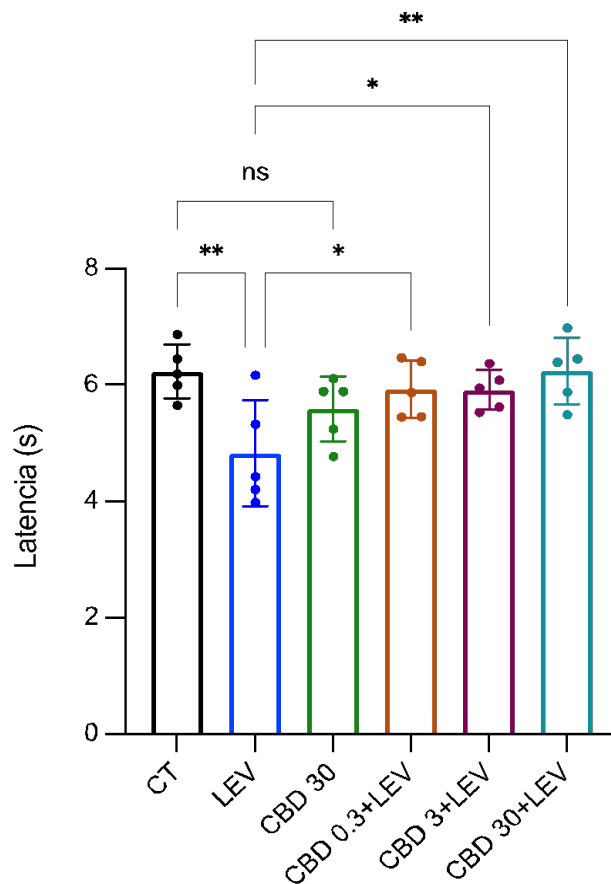


Figura 9. Valores de tiempo (s) de latencia en placa caliente en ratas Wistar tratadas con levofloxacina y/o CBD. El análisis entre grupos se realizó usando ANOVA de una vía seguido de un test de comparaciones múltiples de Bonferroni. $n=6$. Control (CT), Levofloxacina (LEV), CBD 30mg/kg/día (CBD30), CBD 0.3mg/kg/día + levofloxacina (CBD 0.3 + LEV), CBD 3mg/kg/día + levofloxacina (CBD 3 + LEV), CBD 30mg/kg/día + levofloxacina (CBD 30 + LEV). * p-valor < 0.05 ; ** p-valor < 0.01 .

Dado que los análisis realizados en la Fase 1 no revelaron diferencias estadísticamente significativas, la aplicación de estas pruebas no se consideró pertinente en la Fase 2 del estudio.

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

Sin embargo, se realizó la medición del nitrógeno ureico en sangre (BUN) en las muestras correspondientes a la fase 2, sin que se evidenciaran diferencias significativas entre los grupos experimentales.

4.2.2. Cuantificación de proteínas y determinación de marcadores de estrés oxidante

A partir del homogenado de tejido previamente preparado donde se obtuvo en promedio un volumen de 500 μ l, se procedió a la cuantificación de proteínas totales mediante el método de Bradford. Para ello, se construyó una curva estándar, lo que permitió establecer una relación lineal entre la absorbancia y la concentración de proteínas (Figura 10). Esta curva fue utilizada para interpolar las concentraciones proteicas de las muestras experimentales. Los valores obtenidos de la concentración de proteínas se resumen en la Tabla 6.

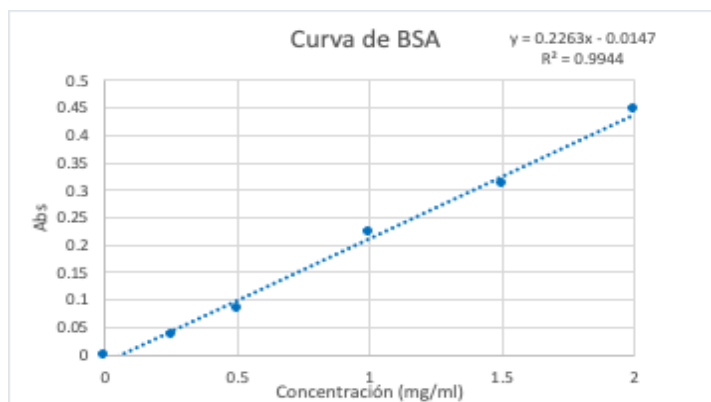


Figura 10. Curva estándar de albúmina sérica bovina (BSA) obtenida mediante el método de Bradford para la cuantificación de proteínas totales.

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

Tabla 6. Determinación de la concentración de proteínas totales en las muestras mediante el método de Bradford.

BRADFORD – Concentración de proteínas totales (mg/ml)											
CT		LEV		CBD 30		CBD0.3+LEV		CBD3+LEV		CBD30 +LEV	
M	Prot.	M	Prot.	M	Prot.	M	Prot.	M	Prot.	M	Prot.
R1	2.570	R2	1.645	R3	2.076	R4	2.779	R5	2.580	R6	1.749
R7	2.158	R8	1.898	R9	1.898	R10	2.440	R11	2.236	R12	1.939
R13	2.426	R14	2.025	R15	2.025	R16	2.572	R17	2.411	R18	3.381
R1	2.144	R2	1.051	R3	2.145	R4	1.568	R5	0.902	R6	1.526
R7	1.573	R8	1.668	R9	1.668	R10	2.371	R11	1.556	R12	0.876
R13	1.632	R14	0.970	R15	0.970	R16	0.344	R17	0.484	R18	0.832

Concentración de proteínas totales obtenido mediante el método de Bradford en ratas Wistar tratadas con levofloxacin y/o CBD. n=6. M: Muestra, Prot.: Concentración de proteína, CT: Control, LEV: Levofloxacin, CBD30: CBD 30mg/kg/día, CBD 0.3 + LEV: CBD 0.3mg/kg/día + levofloxacin, CBD 3 + LEV: CBD 3mg/kg/día + levofloxacin, CBD 30 + LEV: CBD 30mg/kg/día + levofloxacin.

Con el fin de evaluar el estado oxidante en los diferentes grupos experimentales, se cuantificaron varios marcadores de estrés oxidante. En la Tabla 7 se presentan los valores promedio obtenidos para estos parámetros, incluyendo las concentraciones de 4-hidroxi-2-nonanal (4-HNE) como marcador de peroxidación lipídica, así como las actividades enzimáticas de catalasa (CAT) y superóxido dismutasa (SOD) y los niveles de glutatión (GSH). La medición de estos indicadores permitió una caracterización integral del balance redox tisular, facilitando la evaluación del daño oxidante inducido por el tratamiento con levofloxacin, así como el análisis del posible efecto protector del CBD cuando se administró en combinación. Sin embargo, no se

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos analizados en ninguno de los parámetros evaluados, lo que sugiere que las intervenciones aplicadas no generaron alteraciones detectables en los niveles de estrés oxidante bajo las condiciones experimentales establecidas.

Tabla 7. Valores para marcadores de estrés oxidante en homogenados de nervio ciático de ratas Wistar tratadas con levofloxacin y/o CBD.

Pruebas enzimáticas						
GRUPO	Actividad catalasa			4-HNE	Actividad SOD	[GSH]total
	k1 (0-15)	k2 (15-30)	k3 (0-30)	nmol/mg prot.	U/mg prot.	μmol / mg prot.
CT	0.012 ±0.013	0.012 ±0.011	0.012 ±0.003	148.007 ±67.018	0.643 ±0.436	1.726 ±1.446
LEV	0.019 ±0.019	0.006 ±0.002	0.015 ±0.013	199.495 ±79.685	0.643 ±0.289	1.753 ±0.273
CBD30	0.017 ±0.024	0.015 ±0.012	0.016 ±0.017	213.188 ±207.871	1.239 ±1.234	2.729 ±1.394
CBD0.3+LEV	0.011 ±0.009	0.013 ±0.011	0.012 ±0.009	171.818 ±137.759	0.485 ±0.305	1.142 ±0.354
CBD3+LEV	0.040 ±0.043	0.012 ±0.013	0.026 ±0.026	124.832 ±99.165	0.899 ±0.642	1.961 ±1.25
CBD30+LEV	0.017 ±0.011	0.012 ±0.011	0.015 ±0.01	132.638 ±75.818	1.198 ±1.187	1.989 ±0.929

Datos promedio ± DE de pruebas para marcadores de estrés oxidante. n=6. El análisis entre grupos se realizó usando ANOVA de una vía de una vía seguido por un test de comparación múltiple de Bonferroni. CT: Control, LEV: Levofloxacin, CBD30: CBD 30mg/kg/día, CBD 0.3 + LEV: CBD 0.3mg/kg/día + levofloxacin, CBD 3 + LEV: CBD 3mg/kg/día + levofloxacin, CBD 30 + LEV: CBD 30mg/kg/día + levofloxacin.

4.2.2.1. Peroxidación lipídica

La peroxidación lipídica fue evaluada como un marcador de estrés oxidante mediante la cuantificación de 4-HNE, utilizando su reacción con N-metil-2-fenilindol, que produce un

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

cromóforo detectable a 586 nm. A partir de esta reacción, se construyó una curva estándar (Figura 11) utilizando concentraciones crecientes de TMPO, permitiendo la interpolación de las concentraciones de 4-HNE en los homogenados (Tabla 7). Los resultados obtenidos reflejan los niveles relativos de peroxidación lipídica en los diferentes grupos analizados.

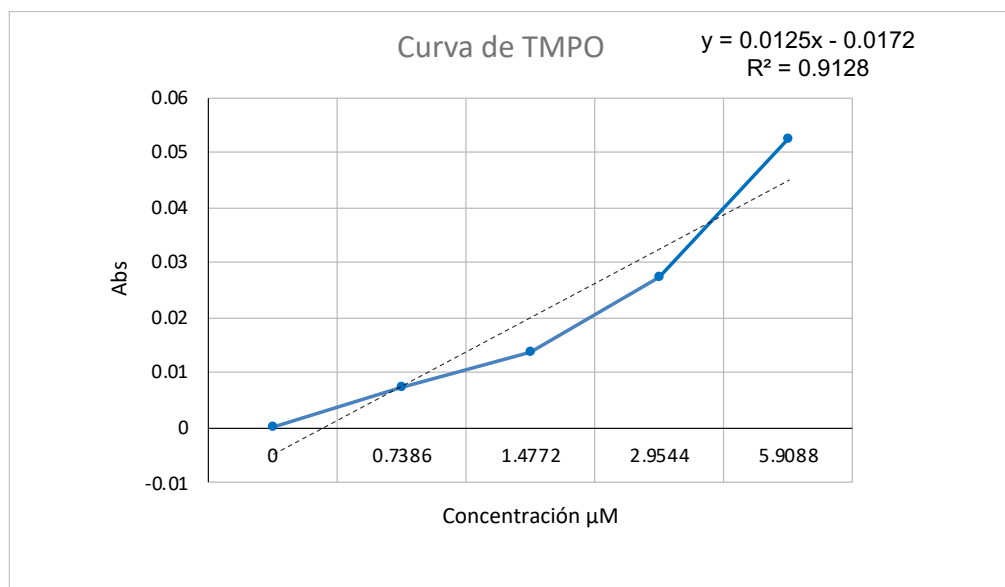


Figura 11. Curva de calibración estándar de TMPO para la cuantificación de 4-HNE en homogenados de nervio ciático de ratas Wistar tratadas con levofloxacin y/o CBD.

4.2.2.2. GSH total

Se determinó la concentración de GSH a partir de una curva estándar basada en la reacción de GSH con DTNB, que da lugar a la formación TNB. En la Figura 12 se presenta la curva obtenida, en la cual se utilizó una serie de concentraciones conocidas de GSH y se registró la absorbancia a 412 nm, observándose una relación lineal entre la concentración de GSH y la intensidad de la señal. Los valores de absorbancia de las muestras fueron interpolados en la curva, empleando la ecuación de la recta generada (Figura 13). Lo anterior, permitió calcular las concentraciones de GSH en las muestras (Tabla 7).

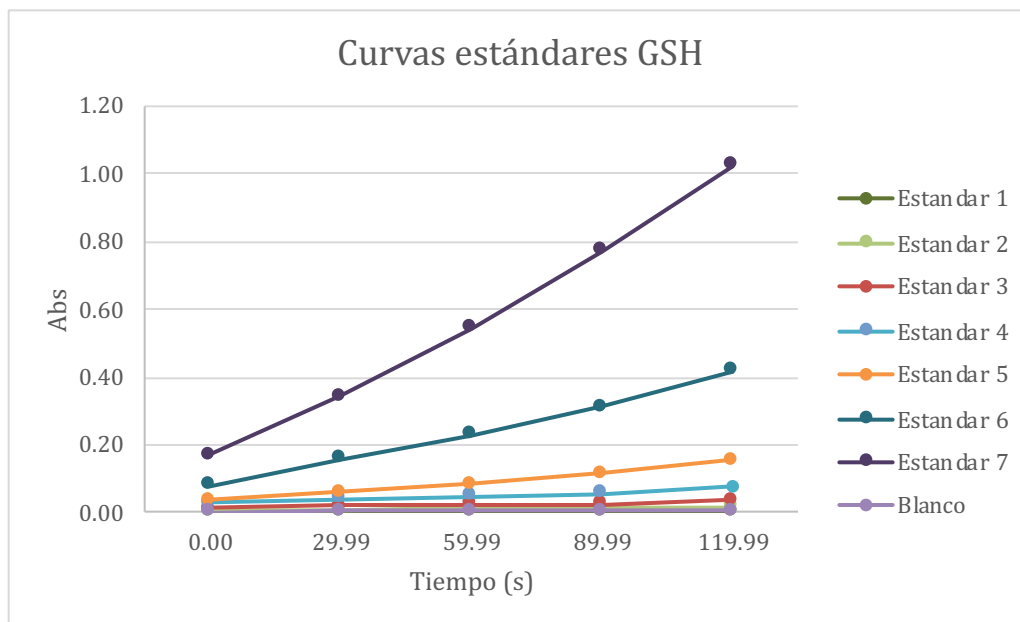


Figura 12. Curvas de velocidad para los estándares de GSH en homogenados de nervio ciático de ratas Wistar tratadas con levofloxacina y/o CBD.

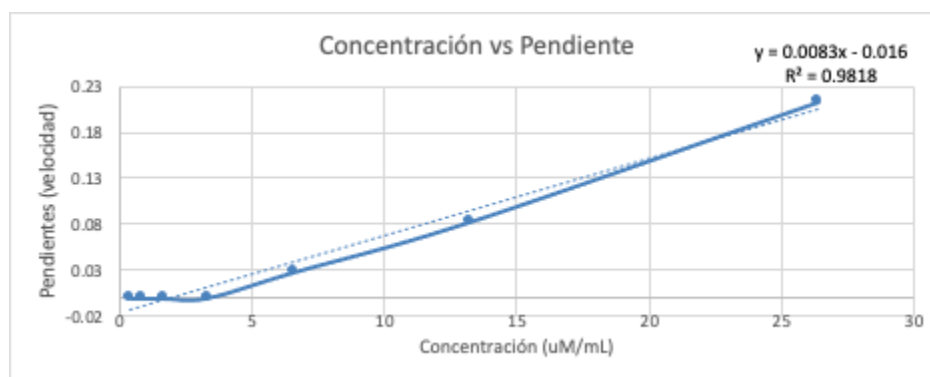


Figura 13. Curva de calibración de concentración de estándares de GSH vs pendiente.

4.2.2.3. Superóxido dismutasa

La actividad SOD fue evaluada a partir de la inhibición de la formación de formazán, detectada colorimétricamente a 560 nm. En los diferentes grupos experimentales, los valores obtenidos de actividad SOD, mostraron un comportamiento homogéneo, sin diferencias estadísticamente significativas entre ellos (Tabla 7). Si bien no se observaron diferencias

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

significativas en la actividad de la enzima entre los grupos experimentales, se evidenció que algunos valores individuales fueron más altos en los grupos que recibieron la dosis de 30 mg/kg/día de CBD, tanto en el grupo con cotratamiento como en el grupo tratado únicamente con CBD.

4.2.2.4. Catalasa

La actividad de la enzima antioxidante CAT fue determinada midiendo la descomposición del H₂O₂ a 240 nm durante 30 segundos. Se utilizó el valor de k₁, correspondiente al primer intervalo de variación en absorbancia, dado que representa la fase inicial de la reacción enzimática de la catalasa por su corto tiempo de actividad. Los valores de su actividad se obtuvieron dividiendo el valor de k entre los mg de proteína de cada muestra (Tabla 6), los cuales no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes grupos experimentales (Tabla 7).

4.3. Evaluación histológica de nervio ciático

Se evaluaron las características histológicas y morfométricas del nervio ciático en los diferentes grupos experimentales. En los cortes teñidos con H&E se observa la disposición característica de las fibras nerviosas en cortes longitudinales del nervio ciático presentando fibras nerviosas organizadas, con presencia de axones distribuidos de manera uniforme, sin evidenciar alteraciones notorias en la morfología general del tejido (Figura 14). La densidad axonal, la densidad de células de Schwann y de fibroblastos, la longitud del perineuro, el área del fascículo y la proporción de células de Schwann respecto a las fibras nerviosas mostraron valores consistentes entre los grupos evaluados. Estas imágenes ilustran la morfología general observada en cada grupo experimental y respaldan los análisis morfométricos descritos, en los cuales no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. En la Tabla 8 se

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

presentan los resultados cuantitativos de estos parámetros, los cuales no evidenciaron diferencias estadísticamente significativas, lo que indica que el tratamiento no indujo cambios estructurales relevantes en el nervio ciático.

Tabla 8. Parámetros morfométricos de nervio ciático de ratas Wistar tratadas con levofloxacin y/o CBD.

Parámetros morfométricos	Grupos experimentales					
	CT	LEV	CBD30	CBD 0.3 + LEV	CBD 3 + LEV	CBD30 + LEV
Área Fascículo (μm^2)	2334269 ± 789841.33	2712273 ± 2009903.294	3395154.783 ± 2893156.424	3984740.5 ± 3011364.374	2725632.333 ± 1128945.178	3660586.7 83 ± 2708584.135
Densidad axonal (μm^2)	192.781 ± 156.109	271.84 ± 315.349	411.763 ± 266.453	307.024 ± 311.809	434.231 ± 259.138	232.765 ± 224.908
Densidad de células de Schwann (μm^2)	468.765 ± 266.346	426.572 ± 414.721	727.254 ± 172.859	633.762 ± 683.100	824.089 ± 240.524	622.212 ± 318.998
Longitud del perineuro (μm)	263.687 ± 12.457	273.417 ± 56.16	294.702 ± 136.222	267.776 ± 84.446	260.495 ± 91.960	287.875 ± 147.749
Densidad de fibroblastos (μm^2)	6.998 ± 3.62	3.598 ± 1.418	5.862 ± 4.499	6.004 ± 3.906	3.863 ± 1.372	4.921 ± 1.932
Proporción de células de Schwann vs fibras nerviosas	0.373 ± 0.152	0.496 ± 0.266	0.546 ± 0.52	0.413 ± 0.304	0.524 ± 0.255	0.372 ± 0.207

Datos promedio \pm DE de parámetros histológicos y morfométricos de nervio ciático. n=6. El análisis entre grupos se realizó usando ANOVA de una vía de una vía seguido por un test de comparación múltiple de Bonferroni. Control (CT), Levofloxacin (LEV), CBD 30mg/kg/día (CBD30), CBD 0.3mg/kg/día + levofloxacin (CBD 0.3 + LEV), CBD 3mg/kg/día + levofloxacin (CBD 3 + LEV), CBD 30mg/kg/día + levofloxacin (CBD 30 + LEV).

Como parte del análisis morfológico del nervio ciático, se presentan las características morfológicas de las fibras nerviosas observadas en los diferentes grupos experimentales: control,

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

tratado con levofloxacina y aquellos que recibieron tratamientos combinados con cannabidiol (Figura 14). En las imágenes se identifican estructuras relevantes como las fibras nerviosas, los axones y las células de Schwann.

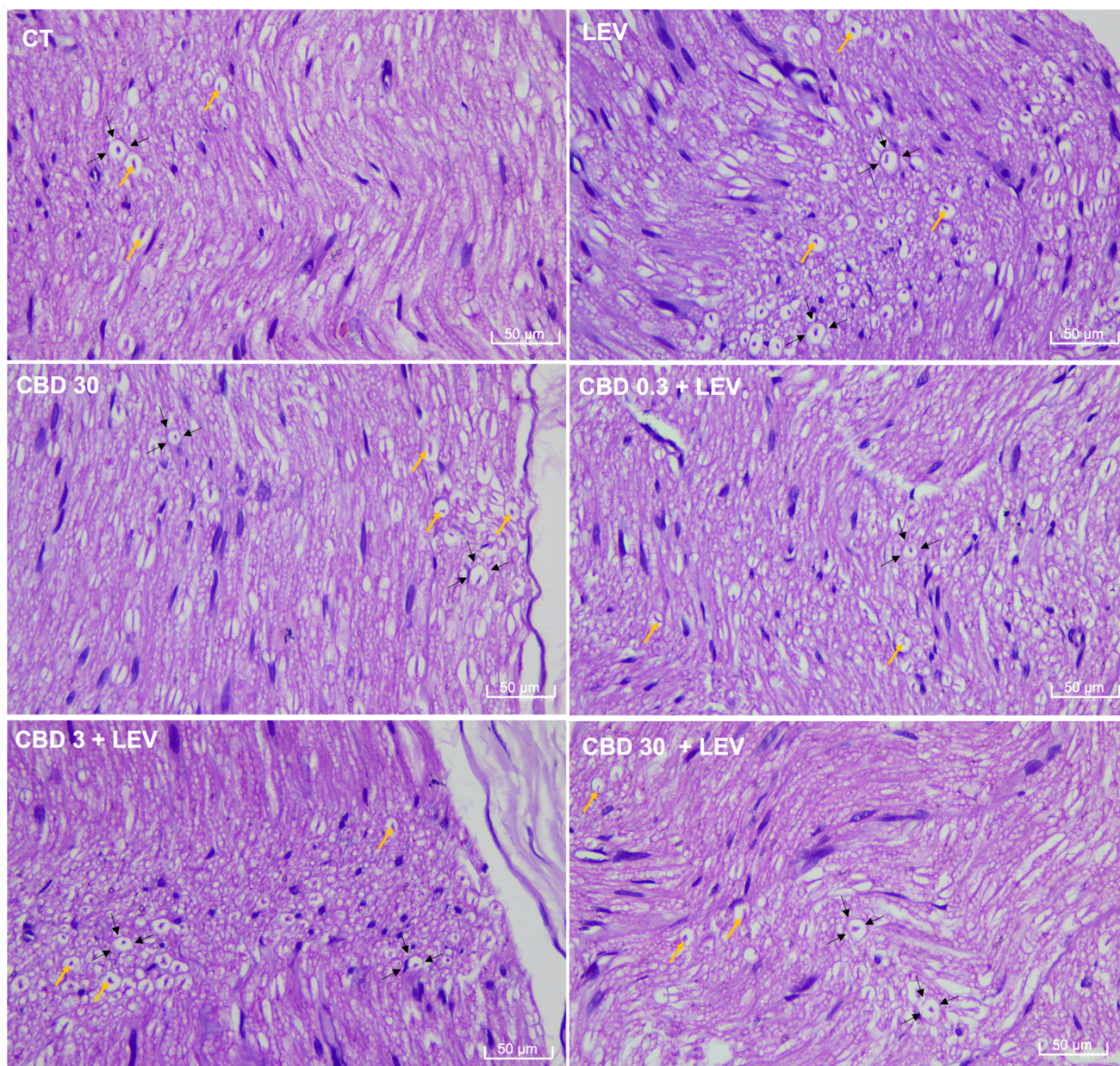


Figura 14. Imágenes representativas de cortes histológicos longitudinales y transversales del nervio ciático de ratas Wistar teñidos con hematoxilina y eosina en los diferentes grupos experimentales, observadas a 40x. Las flechas negras señalan las fibras nerviosas y las flechas

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

amarillas marcan los axones. Las imágenes ilustran la organización típica de los componentes del tejido nervioso periférico en los diferentes grupos experimentales.

Finalmente, se observa un corte histológico del nervio teñido con H&E (Figura 15), donde es posible identificar la organización estructural del tejido nervioso periférico. El fascículo nervioso se encuentra compuesto por numerosas fibras nerviosas, inmersas en un tejido conjuntivo laxo denominado endoneuro. Cada fascículo se encuentra delimitado por el perineuro, una capa de tejido conectivo denso que se tiñe con eosina. Asimismo, el epineuro ocupa los espacios intersticiales entre los fascículos y rodea externamente al nervio, proporcionando integridad mecánica al conjunto nervioso. En conjunto, la disposición histológica observada corresponde a una arquitectura normal, sin alteraciones evidentes en la morfología de las fibras nerviosas.

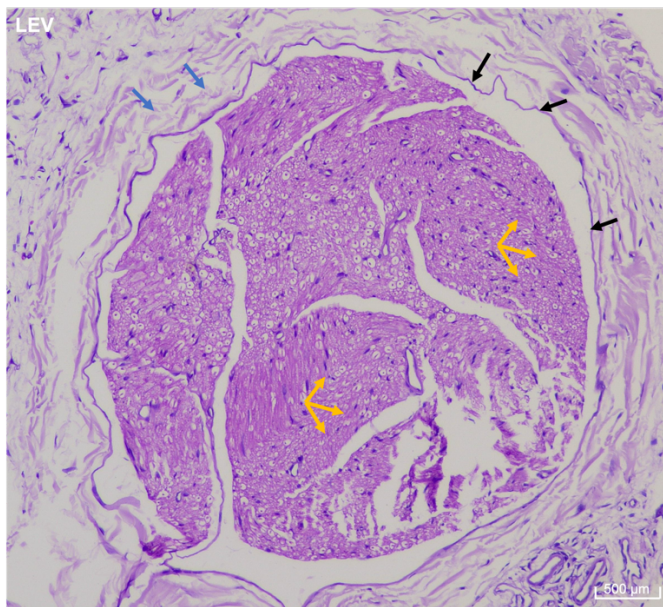


Figura 15. Imagen histológica transversal de fascículo nervioso de rata Wistar del grupo tratado con levofloxacina teñido con H&E, observada a un aumento de 10x. Las flechas negras el perineuro, las flechas amarillas marcan el endoneuro, mientras las azules indican el epineuro.

5. Discusión

Diversos estudios han reportado que las fluoroquinolonas, y en particular la levofloxacin, pueden inducir neuropatías periféricas tanto en modelos animales como en pacientes humanos (Ali, 2014). Estas neuropatías se han manifestado clínicamente a través de parestesias, pérdida sensorial, dolor crónico y debilidad muscular, síntomas que pueden desarrollarse incluso tras la administración de una sola dosis del fármaco. En este contexto, se han documentado casos de dolor neuropático crónico refractario al tratamiento convencional y atribuibles al uso de levofloxacin (Dukewich et al., 2017), así como recurrencias en pacientes con antecedentes de neuropatía (Hao et al., 2018). Tales hallazgos han reforzado la preocupación sobre la severidad y persistencia de los efectos adversos asociados a este antibiótico (Etminan et al., 2014; FDA, 2016).

Los mecanismos subyacentes a estas alteraciones han sido relacionados con la capacidad de las fluoroquinolonas para interferir en procesos celulares fundamentales de las neuronas periféricas, como la función de los canales iónicos, el equilibrio redox y la homeostasis mitocondrial. Evidencias experimentales han demostrado que estos compuestos pueden inducir disfunción mitocondrial, lo cual contribuye al daño neuronal observado en los casos de neuropatía periférica asociada a su uso (Kern & Geier, 2021; Reinhardt et al., 2025).

En concordancia con esta evidencia, los resultados del presente estudio muestran que la administración continua de levofloxacin a una dosis de 125 mg/kg/día durante siete días produjo una marcada sensibilización nociceptiva en roedores. Esta se reflejó en la disminución significativa

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

de los umbrales de retirada ante estímulos mecánicos y térmicos, como se observa en la Figura 6, lo cual sugiere el establecimiento de un estado de alodinia y/o hiperalgesia. Estos hallazgos respaldan la hipótesis de que la exposición a levofloxacin es capaz de inducir fenómenos de nocicepción asociados a mecanismos inflamatorios y neurotóxicos.

El uso de pruebas nociceptivas, como la placa caliente y la estimulación mecánica, resultó altamente eficaz para detectar estas alteraciones en la sensibilidad al dolor, lo cual coincide con lo reportado por Yalcin et al. (2009) y Pawar et al. (2021), quienes destacan la utilidad de estas herramientas para evaluar cambios en la nocicepción bajo condiciones experimentales de inflamación y daño nervioso. Asimismo, estudios más recientes han confirmado que dichas pruebas permiten valorar con precisión los efectos de intervenciones farmacológicas sobre la percepción dolorosa (Sahranavard et al., 2024). En conjunto, los resultados obtenidos en este trabajo no solo corroboran las observaciones previas sobre el potencial neurotóxico de la levofloxacin, sino que también aportan evidencia experimental de que su administración continua genera un estado de hipersensibilidad al dolor en modelos animales.

Adicionalmente, estudios preclínicos han evidenciado que el tratamiento con levofloxacin puede inducir alteraciones conductuales asociadas a deficiencia locomotora y dolor agudo en modelos murinos (Bidell & Lodise, 2016), hallazgos que resultan concordantes con los patrones observados en este estudio. En el presente modelo, la administración repetida del antibiótico produjo una disminución progresiva de los umbrales nociceptivos frente a estímulos mecánicos y térmicos, lo que refleja un estado de sensibilización dolorosa similar al descrito previamente. Esta correspondencia no solo refuerza la hipótesis de que la levofloxacin ejerce efectos acumulativos

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

sobre el sistema nervioso, favoreciendo la aparición de fenómenos de alodinia e hiperalgesia (Hao et al., 2018), sino que también valida la pertinencia del modelo experimental utilizado, al reproducir de manera consistente las manifestaciones nociceptivas documentadas en la literatura.

En conjunto, los resultados obtenidos refuerzan la noción de que la levofloxacin ejerce efectos adversos sobre el sistema nervioso periférico. La evidencia de una hipersensibilidad al dolor tras la exposición continua al antibiótico, reflejada en la reducción de la respuesta a estímulos nociceptivos, sugiere que este fármaco puede favorecer procesos de disfunción neuronal capaces de contribuir al establecimiento de neuropatías de carácter persistente. Así, estos resultados son consistentes con la literatura sobre neurotoxicidad inducida por fluoroquinolonas y destacan la relevancia de investigar estrategias de neuroprotección que mitiguen estos efectos adversos en contextos clínicos donde el uso prolongado del antibiótico sea necesario.

Por su parte, la evaluación de los parámetros bioquímicos permitió identificar posibles alteraciones en la función renal y hepática asociadas al tratamiento experimental (Tabla 4). Aunque no se observaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de creatinina, AST, ALT, ALP ni CK-MB entre los grupos evaluados, el aumento significativo de BUN sugiere un posible compromiso de la función renal. Este parámetro es un marcador clínico ampliamente utilizado para evaluar el estado funcional del riñón y un incremento en sus niveles puede indicar daño renal, tanto en contextos agudos como crónicos (Jana et al., 2023; Sami et al., 2023).

Este resultado tiene relevancia considerando que las fluoroquinolonas, incluyendo la levofloxacin, han sido asociadas con toxicidad renal en estudios clínicos y preclínicos

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

(Ramalakshmi et al., 2003; Oda et al., 2014, Hussien et al., 2023). Se ha documentado que estos antibióticos pueden inducir nefrotoxicidad a través de mecanismos como estrés oxidante, acumulación de metabolitos tóxicos, y alteraciones renales (Ara et al., 2020). Sin embargo, los hallazgos no permiten establecer de manera concluyente la presencia de daño renal, pues requeriría la confirmación mediante análisis histopatológicos del tejido. Además, no se ve respaldada por los niveles de creatinina, los cuales no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos analizados.

A pesar de la evidencia previa que señala que las fluoroquinolonas pueden inducir daño hepático, tanto bioquímico como histológico (Coban et al., 2005; Adikwu & Deo, 2012; Al-Miah, 2019), la ausencia de alteraciones significativas en los marcadores hepáticos convencionales (AST, ALT y ALP) sugiere que, bajo el esquema de dosificación utilizado en este estudio, no se generó un daño hepático evidente. No obstante, es importante señalar que la ausencia de cambios bioquímicos no excluye completamente la posibilidad de daño subclínico. Por ello, se deberían considerar parámetros complementarios, así como análisis histopatológicos del tejido hepático.

Es importante señalar que los valores obtenidos en las pruebas bioquímicas se encuentran dentro de los rangos fisiológicos reportados para ratas Wistar, y son consistentes con los datos previamente publicados por Leal (2020) y Oliveira et al. (2021). Del mismo modo, los resultados de los hemogramas se ubicaron dentro de los valores de referencia descritos en dichos trabajos (Tabla 5). Esta concordancia respalda la validez de los resultados obtenidos y sugiere que las condiciones experimentales utilizadas en este estudio no generaron alteraciones significativas en los parámetros evaluados.

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

Los resultados hematológicos analizados muestran que todos los parámetros evaluados, tanto en el grupo control como en el grupo tratado con levofloxacina, se encuentran dentro de los rangos de referencia previamente reportados (Leal, 2020; Oliveira et al., 2021; Kim et al., 2024). Así, los niveles de RBC, HGB, HCT y PLT se mantuvieron estables y dentro de los límites normales, lo que indica que no hubo alteraciones relevantes asociadas al tratamiento (Tabla 5). Los conteos de monocitos, eosinófilos y basófilos también permanecieron dentro de los valores de referencia. Así, esto sugiere que la administración de levofloxacina en las condiciones evaluadas no generó efectos adversos evidentes sobre los parámetros hematológicos globales.

En cuanto a las pruebas nociceptivas realizadas en la fase 2, la reducción del umbral de retirada observada, tanto en la prueba de presión en pata como en cola, así como la reducción en el tiempo de latencia en la placa caliente (Figura 7, 8 y 9), en el grupo tratado con levofloxacina es consistente con lo encontrado en la fase 1. En particular, se ha observado que la exposición a fluoroquinolonas como la levofloxacina puede provocar una disminución significativa de los umbrales de dolor mecánico y térmico, efecto posiblemente mediado por alteraciones en la integridad de fibras nerviosas periféricas evidenciando un riesgo elevado de daño nervioso (Ali, 2014). Algunos estudios han confirmado que el uso de fluoroquinolonas se asocia con neuropatías periféricas, caracterizadas por dolor intenso y reducción en los umbrales de detección sensorial, atribuidos a daño en las fibras nerviosas (Ali, 2014; Dukewich et al., 2017; Ghavanini, 2017). También se ha documentado que estos efectos pueden presentarse rápidamente tras la administración del antibiótico, con síntomas que incluyen pérdida de la función sensorial y dolor neuropático severo (Pan et al., 2016). En contraste, investigaciones han documentado la capacidad

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

de las fluoroquinolonas para alterar la excitabilidad neuronal y afectar la función de fibras nerviosas sensitivas, mostrando resultados como analgésico (Prasanna et al., 2021). Los hallazgos de este estudio apoyan principalmente la primera perspectiva, ya que la administración continua de levofloxacina promovió un estado de sensibilización dolorosa, evidenciado por la disminución progresiva de los umbrales nociceptivos. En este contexto, resulta indispensable profundizar en investigaciones adicionales que evalúen los efectos de estos antibióticos sobre la modulación de la percepción nociceptiva, considerando tanto sus posibles propiedades analgésicas como su potencial para inducir alteraciones sensitivas adversas.

Los tratamientos combinados utilizados mostraron una capacidad parcial para restaurar los umbrales mecánicos hacia valores cercanos a los basales (Figuras 7 y 8), lo que sugiere un efecto conjunto con posible acción antinociceptiva y/o neuroprotectora del cannabidiol. Estos resultados coinciden con lo reportado en la literatura, donde se ha demostrado que el CBD ejerce efectos antinociceptivos en modelos animales de dolor crónico (Barnes et al., 2023). De esta manera, los hallazgos del presente estudio refuerzan la noción de que el CBD constituye un compuesto de interés terapéutico, en concordancia con su perfil antiinflamatorio y analgésico descrito previamente en diferentes condiciones experimentales. En particular, múltiples investigaciones han señalado que el CBD puede aumentar significativamente los umbrales de dolor mecánico y térmico en modelos de neuropatía, inflamación y enfermedades neurodegenerativas (Nascimento et al., 2019; Silva-Cardoso & Leite-Panissi, 2022), dándole solidez a la interpretación de los resultados obtenidos.

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

El presente trabajo evaluó el efecto del CBD en la modulación del dolor crónico utilizando diversas pruebas nociceptivas en un modelo animal. Los resultados obtenidos aportan evidencia acerca de su potencial analgésico en condiciones de dolor persistente. En primer lugar, el tratamiento con CBD produjo una reducción significativa en la hiperalgesia mecánica, evaluada a través de la prueba de presión en pata y presión en cola (Figuras 7 y 8). Este efecto indica una restauración de los umbrales de sensibilidad, sugiriendo que el CBD podría mitigar las alteraciones asociadas al dolor neuropático causado por la levofloxacina. De manera complementaria, en la prueba de placa caliente (Figura 9), que evalúa la hiperalgesia térmica, el CBD incrementó la latencia de respuesta al estímulo nociceptivo, lo cual corrobora su capacidad de modular vías aferentes involucradas en la transmisión térmica dolorosa y un efecto generalizado en la inhibición de la sensibilización central (Silva-Cardoso & Leite-Panissi, 2022).

Estos resultados son congruentes con lo reportado por Malta et al. (2023), quienes evidenciaron que el CBD reduce de forma significativa las respuestas nociceptivas tanto mecánicas como térmicas en modelos animales, lo que respalda la interpretación de que los efectos observados en este estudio reflejan un mecanismo de acción concordante con la evidencia experimental previa.

Los efectos antialodínicos observados en los grupos tratados con cannabidiol y sus combinaciones podrían estar relacionados con la capacidad del CBD para modular mecanismos periféricos del dolor, incluyendo la inhibición de la liberación de citoquinas proinflamatorias y la regulación de canales iónicos asociados a la transmisión nociceptiva (Silva-Cardoso & Leite-Panissi, 2022; Veras et al., 2023). Además, se ha demostrado que análogos de cannabidiol pueden

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

reducir significativamente los síntomas de alodinia en modelos murinos de neuropatía periférica, sugiriendo una acción directa sobre las vías sensoriales afectadas (Marques et al., 2024).

El mecanismo por el cual el CBD ejerce este efecto antinociceptivo es complejo y multifactorial. Por un lado, se ha demostrado que el CBD modula la actividad del sistema endocannabinoide al inhibir la enzima FAAH, lo que conduce a una acumulación de anandamida, un endocannabinoide con propiedades analgésicas. Esta anandamida actúa sobre los receptores cannabinoides CB1 y CB2, así como sobre canales TRP, entre estos, TRPV1 y TRPV3, que están implicados en la percepción del dolor, modulando su actividad e induciendo efectos antinociceptivos, mediante la regulación de la transmisión como la percepción del dolor (Iannotti et al., 2014; Nascimento et al., 2019; Silva-Cardoso et al., 2021; Chand et al., 2025). Además, el CBD inhibe la liberación de neurotransmisores excitatorios desde terminaciones presinápticas y modula la excitabilidad neuronal, lo que contribuye a su efecto analgésico en dolor crónico (Arthur et al., 2024). De igual forma, se ha observado que su administración reduce la activación de células gliales y promueve un entorno neuroquímico menos inflamatorio en regiones cerebrales asociadas al procesamiento del dolor (Borgonetti et al., 2022; Silva-Cardoso et al., 2023)

Aunque el efecto restaurador de los tratamientos combinados no alcanzó completamente los valores basales observados en el grupo control, la tendencia hacia la disminución de la hiperalgesia sugiere un impacto positivo del CBD en la atenuación de la sensibilización nociceptiva inducida por levofloxacina. Sin embargo, factores como la dosis, la duración del tratamiento y las características farmacocinéticas del CBD podrían influir en la magnitud del efecto observado (Hayduk et al., 2024). Además, los resultados fueron coherentes con trabajos previos

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

que señalan una buena tolerancia al CBD, sin evidencia de efectos adversos relevantes, incluso tras su administración prolongada (Silva-Cardoso & Leite-Panissi, 2022).

Los hallazgos de este estudio, junto con la evidencia reportada en la literatura, posicionan al cannabidiol como un candidato terapéutico prometedor para el manejo del dolor crónico, especialmente en aquellos casos clínicos donde las terapias convencionales resultan ineficaces o generan efectos adversos significativos, lo que respalda su utilidad potencial como herramienta terapéutica complementaria o sustitutiva en este tipo de patologías.

Por otra parte, diversos estudios experimentales han demostrado que la administración de levofloxacina puede inducir un desequilibrio en el sistema redox, caracterizado por un incremento de la peroxidación lipídica y una disminución en la capacidad antioxidante celular. En modelos animales, particularmente en ratas y ratones, se ha reportado un aumento significativo en los niveles de malondialdehído y 4-HNE, productos derivados del daño oxidante a lípidos, lo cual constituye una evidencia clara de peroxidación lipídica intensificada tras la exposición a este antibiótico (Olayinka et al., 2015; Farid & Hegazy, 2019). Este efecto oxidante suele ir acompañado de una disminución en la actividad de importantes enzimas antioxidantes endógenas como la CAT y SOD, así como de una reducción en los niveles de GSH, un antioxidante no enzimático clave. Esta combinación sugiere una capacidad limitada de defensa celular frente al aumento de ERO. Además, se ha documentado que la generación excesiva de ERO es un mecanismo clave mediante el cual la levofloxacina puede inducir estrés oxidante en diversos tejidos, incluyendo hígado (Afolabi & Oyewo, 2014) y riñón (Fiqardina et al., 2022). Estas alteraciones bioquímicas se han asociado con daño tisular, disfunción hepática y renal, y cambios

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

en biomarcadores clínicos, lo que confirma el potencial tóxico de este fármaco en contextos de uso prolongado o en dosis elevadas.

Pese a lo anterior, los resultados obtenidos no mostraron alteraciones significativas en los niveles de 4-HNE, ni en la actividad de las enzimas CAT, SOD y GSH (Tabla 7).

Esta discrepancia podría explicarse por múltiples factores, entre ellos diferencias en el protocolo experimental, tales como la dosis empleada, la vía de administración, así como las características fisiológicas de los sujetos experimentales utilizados (edad, peso, entre otras). Además, es posible que el tiempo de recolección de muestras no coincidiera con el pico de expresión de estos biomarcadores, lo cual podría haber influido en los resultados obtenidos. Por otro lado, aunque idealmente las condiciones de preparación de los homogenados deberían haberse ajustado a los requerimientos específicos de cada bioensayo, debido a la limitada cantidad de tejido disponible, se utilizó un único protocolo de homogenización para todos los análisis. Esta limitación metodológica, podría haber influido en la sensibilidad y precisión de los resultados obtenidos. Estos resultados resaltan la necesidad de estudios adicionales que exploren las condiciones específicas bajo las cuales la levofloxacin ejerce efectos prooxidantes.

Por último, el análisis histológico y morfométrico del nervio ciático realizado permitió obtener una caracterización estructural de los distintos grupos experimentales, mediante cortes transversales y longitudinales teñidos con hematoxilina y eosina. Los parámetros evaluados incluyeron densidad axonal, densidad de células de Schwann y fibroblastos, longitud del perineuro, área del fascículo y la proporción de células de Schwann respecto a las fibras nerviosas (Tabla 8). En el análisis realizado no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos tratados y el control en ninguno de los parámetros evaluados. La ausencia de modificaciones

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

estructurales observada (Tabla 8 y Figura 14) sugiere que el tratamiento no generó daño tisular ni desorganización morfológica en el nervio ciático durante el periodo de estudio. Este hallazgo adquiere relevancia porque indica que, a pesar de la administración continua del compuesto, la arquitectura del nervio se mantuvo conservada, lo cual aporta evidencia de seguridad a nivel histológico en este modelo experimental. Además, los resultados son congruentes con lo descrito en investigaciones previas, donde no se reportaron alteraciones morfológicas adversas ni pérdida de la organización tisular cuando se utilizaron protocolos conservadores o sustancias con bajo potencial tóxico (Atunes et al., 2019; Dias et al., 2023). La consistencia entre lo encontrado en este estudio y lo reportado en la literatura refuerza la interpretación de que la intervención evaluada no compromete la integridad estructural del nervio periférico, aun cuando se emplea bajo condiciones de tratamiento repetido.

En contraste con estudios previos que reportan degeneración axonal, edema endoneural o desmielinización tras la exposición prolongada a determinados fármacos (Zeynal & Kadioğlu, 2022; Yilmaz & Girit, 2024), los resultados indican que, bajo las condiciones experimentales utilizadas, no se observaron signos morfológicos compatibles con neurotoxicidad. Este hallazgo podría estar asociado a diferencias en factores metodológicos como la dosis administrada, el tiempo de exposición o la vía utilizada, el tipo de procesamiento de tejidos para realización de cortes histológicos, variables que pueden determinar la respuesta del tejido nervioso. Sin embargo, la ausencia de cambios histológicos en el nervio ciático debe interpretarse con precaución, pues no excluye la posibilidad de que existan alteraciones funcionales ni descarta que otros nervios periféricos o tejidos puedan verse afectados. En este sentido, los resultados obtenidos resaltan la necesidad de complementar los análisis morfológicos con estudios funcionales y en otros órganos para lograr una comprensión más amplia del impacto del tratamiento. Para ello, resulta

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

fundamental incorporar aproximaciones adicionales, como análisis electrofisiológicos o moleculares, que permitan profundizar en la evaluación de los efectos del tratamiento sobre el tejido nervioso.

6. Conclusiones

El presente trabajo aporta al entendimiento de los efectos neurotóxicos de la levofloxacina, evidenciando su papel en la generación de nocicepción y neuropatía periférica. Con ello se logró establecer un modelo experimental preclínico para el estudio del daño inducido por este antimicrobiano en ratas Wistar.

Un aporte central de la investigación fue la evaluación del cannabidiol como posible agente neuroprotector. Los resultados muestran su capacidad para atenuar la hipersensibilidad mecánica y térmica inducida por la levofloxacina, lo que lo posiciona como un candidato con potencial terapéutico en el manejo del dolor neuropático y abre la discusión sobre su aplicación en contextos clínicos donde las terapias convencionales resultan insuficientes.

Finalmente, los resultados no permitieron describir el papel del estrés oxidativo como mecanismo mediador de la neurotoxicidad periférica inducida por la levofloxacina. No fue posible confirmar una acción directa del CBD sobre la integridad del nervio, y los efectos observados parecen estar más relacionados con procesos de modulación del dolor o respuestas antiinflamatorias que con una preservación estructural neuronal. En este contexto, la ausencia de evidencia clara que respalde la hipótesis inicial subraya la necesidad de realizar investigaciones adicionales que integren aproximaciones morfológicas, bioquímicas y funcionales, con el fin de esclarecer los mecanismos involucrados y precisar el papel del CBD en la protección del sistema nervioso periférico.

7. Recomendaciones

A partir de los resultados obtenidos, se recomienda que futuras investigaciones profundicen en la evaluación funcional del sistema nervioso periférico tras la exposición a levofloxacina, mediante el uso de técnicas complementarias como análisis electrofisiológicos y moleculares que permitan detectar alteraciones no evidentes a nivel histológico. Asimismo, se sugiere explorar diferentes esquemas de dosificación y duración del tratamiento. En cuanto al cannabidiol, se recomienda ampliar su estudio como agente neuroprotector y antinociceptivo, considerando distintas dosis, formulaciones y vías de administración para avanzar hacia su posible aplicación clínica. Por último, estos hallazgos pueden contribuir al fortalecimiento del seguimiento clínico y regulatorio del uso de fluoroquinolonas y promover estrategias terapéuticas más seguras, especialmente en pacientes con riesgo de desarrollar neuropatía periférica.

Referencias Bibliográficas

- Aboubakr, M., & Soliman, A. (2014). Comparative pharmacokinetics of levofloxacin in healthy and renal damaged Muscovy ducks following intravenous and oral administration. *Veterinary Medicine International*, 2014, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2014/986806>
- Adikwu, E., & Deo, O. (2012). Fluoroquinolones Reported Hepatotoxicity. *Pharmacology & Pharmacy*, 2012, 328-336. <https://doi.org/10.4236/PP.2012.33044>
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. En *Methods in Enzymology* (Vol. 105, pp. 121–126). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
- Afolabi, O. K., & Oyewo, E. B. (2014). Effects of ciprofloxacin and levofloxacin administration on some oxidative stress markers in the rat. *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*, 8(1), 38–43. <https://doi.org/10.5281/zenodo.1090856>
- Ali, A. K. (2014). Peripheral neuropathy and Guillain-Barré syndrome risks associated with exposure to systemic fluoroquinolones: A pharmacovigilance analysis. *Annals of Epidemiology*, 24(4), 279–285. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2013.12.009>
- Ali, A. (2014). Signal Detection and Clarification of Peripheral Neuropathy and Guillain-Barré Syndrome Associated with Exposure to Systemic Fluoroquinolones. *British journal of pharmaceutical research*, 4, 407-417. <https://doi.org/10.9734/BJPR/2014/6954>
- Almeida, D. L., & Devi, L. A. (2020). Diversity of molecular targets and signaling pathways for CBD. *Pharmacology Research & Perspectives*, 8(6), e00682. <https://doi.org/10.1002/prp2.682>
- Al-Miahy, A. (2014). Some Biochemical and Histopathological Changes in Liver of Pregnant Female Rats Following Fluoroquinolones Administration. *University of Thi-Qar Journal of Science*. <https://doi.org/10.32792/utq/utjsci/v4i2.591>
- Al-Dalaen, S., & Al-Qtaitat, A. (2014). Review Article: Oxidative Stress Versus Antioxidants. *American Journal of BioScience*, 2, 60. <https://doi.org/10.11648/J.BIO.20140205.11>
- Anderson, V. R., & Perry, C. M. (2008). Levofloxacin: A review of its use as a high-dose, short-course treatment for bacterial infection. *Drugs*, 68(4), 535–565. <https://doi.org/10.2165/00003495-200868040-00011>
- Ara, C., Asmatullah, A., Kanwal, S., Chaudhary, A., & Siddiqua, A. (2020). Haematological and histopathological analyses of levofloxacin induced toxicity in mammals. *Pakistan Journal of Zoology*, 35(1), 1–6. <https://doi.org/10.17582/journal.pujz/2020.35.1.01.06>

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

- Aragona, M., Onesti, E., Tomassini, V., Conte, A., Gupta, S., Gilio, F., Pantano, P., Pozzilli, C., & Inghilleri, M. (2009). Psychopathological and cognitive effects of therapeutic cannabinoids in multiple sclerosis: A double-blind, placebo-controlled, crossover study. *Clinical Neuropharmacology*, 32(1), 41–47. <https://doi.org/10.1097/WNF.0b013e3181633497>
- Aridoss, G., Parthiban, P., Ramachandran, R., Prakash, M., Kabilan, S., & Jeong, Y. T. (2009). Synthesis and spectral characterization of a new class of N-(N-methylpiperazinoacetyl)-2,6-diarylpiperidin-4-ones: Antimicrobial, analgesic and antipyretic studies. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44(2), 577–592. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2008.03.031>
- Arthur, P., Kalvala, A., Surapaneni, S., & Singh, M. (2024). Applications of Cannabinoids in Neuropathic Pain: An Updated Review.. *Critical reviews in therapeutic drug carrier systems*, 41 1, 1-33 . <https://doi.org/10.1615/critrevtherdrugcarriersyst.2022038592>
- Antunes, J., Karvat, J., Bernardino, G., Kakihata, C., Brancalhão, R., Ribeiro, L., Aragão, F., & Bertolini, G. (2019). HISTOLOGICAL ANALYSIS OF WISTAR RATS SCIATIC NERVES SUBJECTED TO COMPRESSION AND TREATED WITH LOW LEVEL LASER THERAPY AND NEURAL MOBILIZATION. *MNJ (Malang Neurology Journal)*. <https://doi.org/10.21776/UB.MNJ.2019.005.02.1>.
- Barnes, R., Banjara, S., McHann, M., Almodovar, S., Henderson-Redmond, A., Morgan, D., Castro-Piedras, I., & Guindon, J. (2023). Assessing Dose- and Sex-Dependent Antinociceptive Effects of Cannabidiol and Amitriptyline, Alone and in Combination, and Exploring Mechanism of Action Involving Serotonin 1A Receptors. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 388, 655 - 669. <https://doi.org/10.1124/jpet.123.001855>.
- Berman, J. S., Symonds, C., & Birch, R. (2004). Efficacy of two cannabis-based medicinal extracts for relief of central neuropathic pain from brachial plexus avulsion: Results of a randomised controlled trial. *Pain*, 112(3), 299–306. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2004.09.013>
- Bidell, M. R., & Lodise, T. P. (2016). Fluoroquinolone-Associated Tendinopathy: Does Levofloxacin Pose the Greatest Risk?. *Pharmacotherapy*, 36(6), 679–693. <https://doi.org/10.1002/phar.1761>
- Bie, B., Wu, J., Foss, J. F., & Naguib, M. (2018). An overview of the cannabinoid type 2 receptor system and its therapeutic potential. *Current Opinion in Anaesthesiology*, 31(4), 407–414. <https://doi.org/10.1097/ACO.0000000000000616>
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*, 5(1), 9–19. <https://doi.org/10.1097/WOX.0b013e3182439613>
- Bhattacharyya, S., Morrison, P. D., Fusar-Poli, P., Martin-Santos, R., Borgwardt, S., Winton-Brown, T., Nosarti, C., et al. (2010). Opposite effects of Δ -9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol on human brain function and psychopathology. *Neuropsychopharmacology*, 35(3), 764–774. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.184>

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

- Bisogno, T., Hanuš, L., De Petrocellis, L., Tchilibon, S., Ponde, D. E., Brandi, I., Schiano Moriello, A., Davis, J. B., Mechoulam, R., & Di Marzo, V. (2001). Molecular targets for cannabidiol and its synthetic analogues: Effect on vanilloid VR1 receptors and on the cellular uptake and enzymatic hydrolysis of anandamide. *British Journal of Pharmacology*, 134(4), 845–852. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0704327>
- Borges, R., Batista, J., Viana, R., Baetas, A., Orestes, E., Andrade, M., Honório, K., & Da Silva, A. (2013). Understanding the molecular aspects of tetrahydrocannabinol and cannabidiol as antioxidants. *Molecules*, 18(10), 12663–12674. <https://doi.org/10.3390/molecules181012663>
- Borgonetti, V., Anceschi, L., Brighenti, V., Corsi, L., Governa, P., Manetti, F., Pellati, F., & Galeotti, N. (2022). Cannabidiol-rich non-psychotropic *Cannabis sativa* L. oils attenuate peripheral neuropathy symptoms by regulation of CB2-mediated microglial neuroinflammation. *Phytotherapy Research*, 37, 1924 - 1937. <https://doi.org/10.1002/ptr.7710>
- Bridgeman, M. B., & Abazia, D. T. (2017). Medicinal cannabis: History, pharmacology, and implications for the acute care setting. *P & T: A Peer-Reviewed Journal for Formulary Management*, 42(3), 180–188
- Carter, M., & Shieh, J. C. (2015). *Guide to research techniques in neuroscience* (2nd ed.). Amsterdam: Elsevier/AP, Academic Press
- Chand, J., Nagpure, N., Rajesh, G., Ahmad, S., Al-Mazroua, H., Emran, T., Patil, P., Patil, V., & Khanal, P. (2025). Exploring Cannabidiol- Transient Receptor Potential Vanilloid 3 mediated Biological activities-Findings from Molecular Docking, Simulation, and Proteins Network Interactions.. *Chemistry & biodiversity*, e202403494 . <https://doi.org/10.1002/cbdv.202403494>
- Chou, H., Wang, J., Chang, C., Lee, J., Shau, W., & Lai, M. (2013). Risk of severe dysglycemia among diabetic patients receiving levofloxacin, ciprofloxacin, or moxifloxacin in Taiwan. *Clinical Infectious Diseases*, 57(7), 971–980. <https://doi.org/10.1093/cid/cit439>
- Coban, S., Ceydilek, B., Ekiz, F., Erden, E., & Soykan, L. (2005). Levofloxacin-induced acute fulminant hepatic failure in a patient with chronic hepatitis B infection. *Annals of Pharmacotherapy*, 39(10), 1737–1740. <https://doi.org/10.1345/aph.1G111>
- Cohen, J. S. (2001). Peripheral neuropathy associated with fluoroquinolones. *Annals of Pharmacotherapy*, 35(12), 1540–1547. <https://doi.org/10.1345/aph.1Z429>
- Desforges, A. D., Hebert, C. M., Spence, A. L., Reid, B., Dhaibar, H. A., Cruz-Topete, D., Cornett, E. M., Kaye, A. D., Urits, I., & Viswanath, O. (2022). Treatment and diagnosis of chemotherapy-induced peripheral neuropathy: An update. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 147, 112671. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112671>
- Dias, F., Cury, D., Dias, P., Borie, E., Alarcón-Apablaza, J., Lezcano, M., Martínez-Rodríguez, P., Vargas, D., Gutiérrez, B., & Fazan, V. (2023). Effects of Low-Level Laser Therapy and Purified Natural

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

Latex (*Hevea brasiliensis*) Protein on Injured Sciatic Nerve in Rodents: Morpho-Functional Analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 24. <https://doi.org/10.3390/ijms241814031>

Díaz-Hung, M., & Fraguera, M. (2014). Oxidative stress in neurological diseases: cause or effect?. *Neurología*, 29 8, 451-2 . <https://doi.org/10.1016/j.nrl.2013.06.022>

Dukewich, M., Danesh, A., Onyima, C., & Gupta, A. (2017). Intractable Acute Pain Related to Fluoroquinolone-Induced Peripheral Neuropathy. *Journal of Pain & Palliative Care Pharmacotherapy*, 31(2), 144–147. <https://doi.org/10.1080/15360288.2017.1301619>

Durán Delmàs, M., & Capellà Hereu, D. (2004). Uso terapéutico de los cannabinoides. *Adicciones*, 16(2), 143. <https://doi.org/10.20882/adicciones.412>

Etminan, M., Brophy, J. M., & Samii, A. (2014). Oral fluoroquinolone use and risk of peripheral neuropathy: A pharmacoepidemiologic study. *Neurology*, 83(14), 1261–1263. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000000846>

Farid, A. S., & Hegazy, A. M. (2019). Ameliorative effects of *Moringa oleifera* leaf extract on levofloxacin-induced hepatic toxicity in rats. *Drug and Chemical Toxicology*. <https://doi.org/10.1080/01480545.2019.1574811>

Fief, C. A., Hoang, K. G., Phipps, S. D., Wallace, J. L., & Dewese, J. E. (2019). Examining the impact of antimicrobial fluoroquinolones on human DNA topoisomerase II α and II β . *ACS Omega*, 4(2), 4049–4055. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b03428>

Fiqardina, A., Djabir, Y., Santoso, A., Salsabil, S., & Ismail, I. (2022). The Nephroprotective Effect of Clove Oil (*Oleum Caryophylli*) Against Levofloxacin Toxicity in Rats. *Iranian Journal of Toxicology*. <https://doi.org/10.32598/ijt.16.1.854.1>

Fish, D. N. (2001). Fluoroquinolone adverse effects and drug interactions. *Pharmacotherapy*, 21(10, Pt 2), 253S–272S. <https://doi.org/10.1592/phco.21.16.253S.33993>

Food and Drug Administration (FDA). (2016). FDA drug safety communication: FDA requires label changes to warn of risk for possibly permanent nerve damage from antibacterial fluoroquinolone drugs taken by mouth or by injection. U.S. Department of Health and Human Services. <https://www.fda.gov/media/103004/download>

Galasso, M., Gambino, S., Romanelli, M., Donadelli, M., & Scupoli, M. (2021). Browsing the oldest antioxidant enzyme: Catalase and its multiple regulation in cancer. *Free Radical Biology and Medicine*, 177, 244–255. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.06.010>

Ghavanini, A. (2017). Do Fluoroquinolones Cause Neuropathy. *Open Access Journal*, 3. <https://doi.org/10.19080/OAJNN.2017.03.555604>

Glasauer, A., & Chandel, N. S. (2014). Targeting antioxidants for cancer therapy. *Biochemical pharmacology*, 92(1), 90–101. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2014.07.017>

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

- Golomb, B. A., Koslik, H. J., & Redd, A. J. (2015). Fluoroquinolone-induced serious, persistent, multisymptom adverse effects. *BMJ Case Reports*, 2015, bcr2015209821. <https://doi.org/10.1136/bcr-2015-209821>
- Grotenhermen, F. (2006). Los cannabinoides y el sistema endocannabinoide. *Cannabinoids*, 1(1), 10–14
- Grotenhermen, F., & Müller-Vahl, K. (2012). The therapeutic potential of cannabis and cannabinoids. *Deutsches Ärzteblatt International*, 109, 495–501
- Gürbay, A., Gonthier, B., Daveloose, D., Favier, A., & Hincal, F. (2001). Microsomal metabolism of ciprofloxacin generates free radicals. *Free Radical Biology and Medicine*, 30(10), 1118–1121. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(01\)00508-1](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(01)00508-1)
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free radicals in biology and medicine* (5th ed.). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780198717478.001.0001>
- Hampson, A. J., Grimaldi, M., Lolic, M., Wink, D., Rosenthal, R., & Axelrod, J. (2000). Neuroprotective antioxidants from marijuana. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 899, 274–282
- Hangas, A., Aasumets, K., Kekäläinen, N. J., Paloheinä, M., Pohjoismäki, J. L., Gerhold, J. M., & Goffart, S. (2018). Ciprofloxacin impairs mitochondrial DNA replication initiation through inhibition of topoisomerase 2. *Nucleic Acids Research*, 46(18), 9625–9636. <https://doi.org/10.1093/nar/gky793>
- Hao, D., Kiss, G., Grubb, W., Cohen, S., Levin, D., & Sakr, A. (2018). Spinal Cord Neuromodulation Therapy for Levofloxacin-Reinduced Complex Regional Pain Syndrome and Neurotoxicity: A Case Report.. *A&A Practice*. <https://doi.org/10.1213/XAA.0000000000000769>
- Hayduk, S., Hughes, A., Winter, R., Milton, M., & Ward, S. (2024). Single and Combined Effects of Cannabigerol (CBG) and Cannabidiol (CBD) in Mouse Models of Oxaliplatin-Associated Mechanical Sensitivity, Opioid Antinociception, and Naloxone-Precipitated Opioid Withdrawal. *Biomedicines*, 12. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12061145>
- Hudson, R., Rushlow, W., & Laviolette, S. R. (2018). Phytocannabinoids modulate emotional memory processing through interactions with the ventral hippocampus and mesolimbic dopamine system: Implications for neuropsychiatric pathology. *Psychopharmacology*, 235(2), 447–458. <https://doi.org/10.1007/s00213-017-4766-7>
- Hussen, N., Qadir, S., Rahman, H., Hamalaw, Y., Kareem, P., & Hamza, B. (2023). Long-term toxicity of fluoroquinolones: A comprehensive review. *Drug and Chemical Toxicology*. <https://doi.org/10.1080/01480545.2023.2240036>
- Iannotti, F. A., Hill, C. L., Leo, A., Alhusaini, A., Soubrane, C., Mazzarella, E., Russo, E., Whalley, B. J., Di Marzo, V., & Stephens, G. J. (2014). Nonpsychotropic plant cannabinoids, cannabidivarin (CBDV) and cannabidiol (CBD), activate and desensitize transient receptor potential vanilloid 1

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

(TRPV1) channels in vitro: Potential for the treatment of neuronal hyperexcitability. *ACS Chemical Neuroscience*, 5(11), 1131–1141. <https://doi.org/10.1021/cn5000524>

- Ighodaro, O., & Akinloye, O. (2018). First line defence antioxidants—superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), 287–293. <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>
- Jana, S., Mitra, P., Dutta, A., Khatun, A., Das, T. K., Pradhan, S., Nandi, D. K., & Roy, S. (2023). Early diagnostic biomarkers for acute kidney injury using cisplatin-induced nephrotoxicity in rat model. *Current Research in Toxicology*, 5, 100135. <https://doi.org/10.1016/j.crtox.2023.100135>.
- Kalghatgi, S., Spina, C. S., Costello, J. C., Liesa, M., Morones-Ramirez, J. R., Slomovic, S., Molina, A., Shirihai, O. S., & Collins, J. J. (2013). Bactericidal antibiotics induce mitochondrial dysfunction and oxidative damage in mammalian cells. *Science Translational Medicine*, 5(192), 192ra85. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3006055>
- Kampranis, S. C., & Maxwell, A. (1998). Conformational changes in DNA gyrase revealed by limited proteolysis. *Journal of Biological Chemistry*, 273(35), 22606–22614. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.35.22606>
- Karst, M., Salim, K., Burstein, S., Conrad, I., Hoy, L., & Schneider, U. (2003). Analgesic effect of the synthetic cannabinoid CT-3 on chronic neuropathic pain: A randomized controlled trial. *JAMA*, 290(13), 1757. <https://doi.org/10.1001/jama.290.13.1757>
- Kashida, Y., & Kato, M. (1997). Characterization of fluoroquinolone-induced Achilles tendon toxicity in rats: Comparison of toxicities of 10 fluoroquinolones and effects of anti-inflammatory compounds. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41(11), 2389–2393
- Kathmann, M., Flau, K., Redmer, A., Tränkle, C., & Schlicker, E. (2006). Cannabidiol is an allosteric modulator at mu- and delta-opioid receptors. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 372(5), 354–361. <https://doi.org/10.1007/s00210-006-0033-x>
- Kern, J. K., & Geier, D. A. (2021). Fluoroquinolones-Associated Disability: It Is Not All in Your Head. *NeuroSci*, 2(3), 243–260. <https://doi.org/10.3390/neurosci2030017>
- King, D. E., Malone, R., & Lilley, S. H. (2000). New classification and update on the quinolone antibiotics. *American Family Physician*, 61(9), 2741–2748. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10821154>
- Kim, S. T., Kyung, E. J., Suh, J. S., Lee, H. S., Lee, J. H., Chae, S. I., Park, E. S., et al. (2018). Phosphatidylcholine attenuated docetaxel-induced peripheral neurotoxicity in rats. *Drug and Chemical Toxicology*, 41(4), 476–485. <https://doi.org/10.1080/01480545.2017.1390580>

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

- Kim, S. H., Park, M. J., Lim, J. H., & Lee, J. H. (2024). Hematological and biochemical reference intervals for Wistar (Han) rats. *Laboratory Animal Research*, 40(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s42826-024-00194-7>
- Leal Quintero, M. A. (2020). Determinación de valores hematológicos y bioquímicos en ratas Wistar macho del bioterio accesorio de la Universidad Industrial de Santander [Trabajo de grado, Universidad de Santander]. Repositorio Institucional UDES. <https://repositorio.udes.edu.co/handle/001/5119>
- Lötsch, J., Weyer-Menkhoff, I., & Tegeder, I. (2018). Current evidence of cannabinoid-based analgesia obtained in preclinical and human experimental settings. *European Journal of Pain*, 22(3), 471–484. <https://doi.org/10.1002/ejp.1148>
- Lynch III, J. P., File, T. M. Jr., & Zhanel, G. G. (2006). Levofloxacin for the treatment of community-acquired pneumonia. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 4(5), 725–742. <https://doi.org/10.1586/14787210.4.5.725>
- Machado-Duque, M. E., Mercado-Gómez, K., Bernal-Chica, M. C., Uribe-Vélez, S., & Machado-Alba, J. E. (2020). Prescripción e indicaciones de uso de fluoroquinolonas en un grupo de pacientes ambulatorios de Colombia. *Biomédica*, 40(2), 382–390. <https://doi.org/10.7705/biomedica.5103>
- Malta, I., Gonçalves Netto, F., Silva dos Santos, R., Veras, F., & Galdino, G. (2023). Synergistic effect of cannabidiol and transcutaneous electrical nerve stimulation on neuropathic and inflammatory pain in mice. *NeuroReport*, 34(3), 165–169. <https://doi.org/10.1097/WNR.0000000000001877>
- Marchant, J. (2018). When antibiotics turn toxic. *Nature*, 555(7697), 431–433. <https://doi.org/10.1038/d41586-018-03267-5>
- Marques, G. V. L., Braga, A. V., Silva, I. R., Souza, A. R. B., Kohlhoff, M., César, I. C., Machado, R., & Oliveira, R. B. (2024). Synthesis and antiallodynic activity of cannabidiol analogue on peripheral neuropathy in mice. *Chemistry & Biodiversity*. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202301935>
- Massi, P., Valenti, M., Vaccani, A., Gasperi, V., Perletti, G., Marras, E., Fezza, F., Maccarrone, M., & Parolaro, D. (2008). 5-Lipoxygenase and anandamide hydrolase (FAAH) mediate the antitumor activity of cannabidiol, a non-psychoactive cannabinoid. *Journal of Neurochemistry*, 104(4), 1091–1100. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.05073.x>
- Mir, O., Alexandre, J., Tran, A., Durand, J.-P., Pons, G., Treluyer, J.-M., & Goldwasser, F. (2009). Relationship between GSTP1 Ile105Val polymorphism and docetaxel-induced peripheral neuropathy: Clinical evidence of a role of oxidative stress in taxane toxicity. *Annals of Oncology*, 20(4), 736–740. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdn698>
- Morales, D., Pacurariu, A., Slattery, J., Pinheiro, L., McGettigan, P., & Kurz, X. (2019). Association between peripheral neuropathy and exposure to oral fluoroquinolone or amoxicillin-clavulanate therapy. *JAMA Neurology*, 76(7), 827–833. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2019.0887>

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

- Nagarkatti, P., Pandey, R., Rieder, S. A., Hegde, V. L., & Nagarkatti, M. (2009). Cannabinoids as novel anti-inflammatory drugs. *Future Medicinal Chemistry*, 1, 1333–1349. <https://doi.org/10.4155/fmc.09.93>
- Nascimento, G., Ferrari, D., Guimarães, F., Del Bel, E., Bortolanza, M., & Ferreira, N. (2019). Cannabidiol increases the nociceptive threshold in a preclinical model of Parkinson's disease. *Neuropharmacology*, 163. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.107808>.
- Oberley, L. W., & Spitz, D. R. (1984). Assay of superoxide dismutase activity in tumor tissue. En *Methods in Enzymology* (Vol. 105, pp. 457–464). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05064-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05064-3)
- Oda, S. S., Hashem, M. A., & Gad El-Karim, D. R. (2014). A comparative study of levofloxacin- and gentamicin-induced nephrotoxicity in rabbits. *Global Veterinaria*, 13(5), 898–905. <https://doi.org/10.5829/idosi.gv.2014.13.05.86266>
- Olayinka, E., Ola, O., & Ore, A. (2015). Influence of Different Doses of Levofloxacin on Antioxidant Defense Systems and Markers of Renal and Hepatic Dysfunctions in Rats. , 2015, 1-7. <https://doi.org/10.1155/2015/385023>
- Oliveira, F. A. S. de, Ferreira, R. C., Parentoni, R. N., Andrade, C. C. N. de, Lopes, A. L. O., Cruz, A. L. G., Duarte, S. S., Silva, D. K. F., Sousa, V. M., Batista, T. M., Gomes, I. B. S., & Sobral, M. V. (2021). Valores de referência de parâmetros bioquímicos e hematológicos de *Rattus norvegicus* (Wistar) da Unidade de Produção Animal do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos da Universidade Federal da Paraíba. *Scientia Plena*, 17(3), 034901. <https://doi.org/10.14808/sci.plena.2021.034901>
- Pan, L., Wang, Z., & Xu, Y. (2016). Levofloxacin-induced transient musculoskeletal paralysis. *The American journal of emergency medicine*, 35 2, 375.e1-375.e2 . <https://doi.org/10.1016/j.ajem.2016.08.001>.
- Pawar, S., Upaganlawar, A., & Upasani, C. (2021). Attenuation of Hyperalgesia and Allodynia by some Phenolic Acids in Paclitaxel Induced Neuropathy. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2021.01.17.427045>
- Pereira, S. R., Hackett, B., O'Driscoll, D. N., Sun, M. C., & Downer, E. J. (2021). Cannabidiol modulation of oxidative stress and signalling. *Neuronal Signaling*, 5(3), NS20200080. <https://doi.org/10.1042/NS20200080>
- Pisanti, S., Malfitano, A. M., Ciaglia, E., Lamberti, A., Ranieri, R., Cuomo, G., Abate, M., et al. (2017). Cannabidiol: State of the art and new challenges for therapeutic applications. *Pharmacology & Therapeutics*, 175, 133–150. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.02.041>
- Prasanna, K. S., Bhuvaneshwari, T., & Ruckmani, K. (2021). Evaluation of analgesic activity of levofloxacin in adult albino rats. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*, 10(1), 85–89. <https://doi.org/10.18203/2319-2003.ijbcp20205562>

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

- Podder, V., & Sadiq, N. M. (2023). Levofloxacin. In StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545180/>
- Pruchniak, M. P., Araźna, M., & Demkow, U. (2015). Biochemistry of oxidative stress. En M. Pokorski (Ed.), *Advances in clinical science* (Vol. 878, pp. 9–19). Springer. https://doi.org/10.1007/5584_2015_161
- Raja, A., Ahmadi, S., De Costa, F., Li, N., & Kerman, K. (2020). Attenuation of oxidative stress by cannabinoids and cannabis extracts in differentiated neuronal cells. *Pharmaceutics*, 13(11), 328. <https://doi.org/10.3390/ph13110328>
- Ramalakshmi, S., Bastacky, S., & Johnson, J. P. (2003). Levofloxacin-induced granulomatous interstitial nephritis. *American Journal of Kidney Diseases*, 41(5), e7(1). <https://doi.org/10.1053/ajkd.2003.50064>
- Reinhardt, T., Harraoui, Y., Rothemann, A., Jauch, A., Müller-Deubert, S., Köllen, M., Risch, T., Jacobs, L., Müller, R., Traube, F., Docheva, D., Zahler, S., Riemer, J., Bach, N., & Sieber, S. (2025). Chemical proteomics reveal human off-targets of fluoroquinolone induced mitochondrial toxicity.. *Angewandte Chemie*, e202421424 . <https://doi.org/10.1002/anie.202421424>
- Rodrigues, R. S., Lourenço, D. M., Paulo, S. L., Mateus, J. M., Ferreira, M. F., Mouro, F. M., Moreira, J. B., Ribeiro, F. F., Sebastião, A. M., & Xapelli, S. (2019). Cannabinoid actions on neural stem cells: Implications for pathophysiology. *Molecules*, 24(7), 1350. <https://doi.org/10.3390/molecules24071350>
- Rodríguez-Jurado, R. (2009). Biopsia de nervio periférico. *Acta Pediátrica de México*, 30(3), 175–181
- Rossi, R., & Sternon, J. (2001). Levofloxacin: A review of its use in infections of the respiratory tract, skin, and urinary tract. *Drugs*, 61(7), 1019–1042. <https://doi.org/10.2165/00003495-200161070-00007>
- Russo, E. B., Burnett, A., Hall, B., & Parker, K. K. (2005). Agonistic properties of cannabidiol at 5-HT1a receptors. *Neurochemical Research*, 30(8), 1037–1043. <https://doi.org/10.1007/s11064-005-6978-1>
- Rusu, A., Lungu, I. A., Moldovan, O. L., Tanase, C., & Hancu, G. (2021). Structural Characterization of the Millennial Antibacterial (Fluoro)Quinolones-Shaping the Fifth Generation. *Pharmaceutics*, 13(8), 1289. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13081289>
- Ryerson, D. (2022). How CBD Works In The Body. Pure Prescriptions. <https://pureprescriptionscbd.com/what-is-cbd/>
- Sahranavard, S., Khoramjouy, M., Seyyedani, M., Faizi, M., & Mosaddegh, M. (2024). Hydroethanolic Extract of Capparis spinosa Amends Vincristine-Induced Peripheral Neuropathy in Rats. *Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences*. <https://doi.org/10.5812/jrps.146147>

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

- Sami, H., Tarique, I., Arain, S., Mughal, R., Majeed, I., Saba, R., Rajput, J., Altaf, M., & Bux, L. (2023). Comparative assessment of urea, creatinine, and blood urea nitrogen in male and female patients with different age groups of chronic kidney disease in Shaheed Benazir Abad, Sindh. *World Journal of Biology and Biotechnology*. <https://doi.org/10.33865/wjb.008.02.1099>
- Shahbazi, Fred, Victoria Grandi, Abhinandan Banerjee, and John F. Trant. 2020. "Cannabinoids and Cannabinoid Receptors: The Story so Far." *IScience* 23 (7): 101301. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101301>
- Sharma, A., Taneja, G., Khanna, D., & Rajput, S. (2015). Reactive oxygen species: friend or foe?. *RSC Advances*, 5, 57267-57276. <https://doi.org/10.1039/C5RA07927F>
- Silva-Cardoso, G. K., Lazarini-Lopes, W., Hallak, J. E., Crippa, J. A., Zuardi, A. W., Garcia-Cairasco, N., & Leite-Panissi, C. R. A. (2021). Cannabidiol effectively reverses mechanical and thermal allodynia, hyperalgesia, and anxious behaviors in a neuropathic pain model: Possible role of CB1 and TRPV1 receptors. *Neuropharmacology*, 197, 108712. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2021.108712>
- Silva-Cardoso, G., & Leite-Panissi, C. (2022). Chronic Pain and Cannabidiol in Animal Models: Behavioral Pharmacology and Future Perspectives.. *Cannabis and cannabinoid research*. <https://doi.org/10.1089/can.2022.0096>
- Silva-Cardoso, G., Lazarini-Lopes, W., Primini, E., Hallak, J., Crippa, J., Zuardi, A., Garcia-Cairasco, N., & Leite-Panissi, C. (2023). Cannabidiol modulates chronic neuropathic pain aversion behavior by attenuation of neuroinflammation markers and neuronal activity in the corticolimbic circuit in male Wistar rats. *Behavioural Brain Research*, 452. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2023.114588>
- Singh, K., & Kaur, A. (2012). Physiological and Pathological Role of Reactive Oxygen Species. *International Journal of Medical Sciences*, 6, 31-48.
- Staff, N. P., & Dyck, P. J. (2019). On the association between fluoroquinolones and neuropathy. *JAMA Neurology*. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2019.008>
- Toth, C. C., Jedrzejewski, N. M., Ellis, C. L., & Frey, W. H. (2010). Cannabinoid-mediated modulation of neuropathic pain and microglial accumulation in a model of peripheral neuropathic pain. *Molecular Pain*, 6, 16. <https://doi.org/10.1186/1744-8069-6-16>
- Vandeputte, C., Guizon, I., Genestie-Denis, I., Vannier, B., & Lorenzon, G. (1994). A microtiter plate assay for total glutathione and glutathione disulfide contents in cultured/isolated cells: Performance study of a new miniaturized protocol. *Cell Biology and Toxicology*, 10(6), 415–421
- Vara, D., & Pula, G. (2014). Reactive oxygen species: physiological roles in the regulation of vascular cells.. *Current molecular medicine*, 14 9, 1103-25 . <https://doi.org/10.2174/1566524014666140603114010>.

CBD EN NEUROPATÍA PERIFÉRICA POR LEVOFLOXACINA

- Veras, F., Elisei, L., Faccioli, L., Sorgi, C., Netto, G., Santos, R., & Galdino, G. (2023). Cannabidiol prevents chemotherapy-induced neuropathic pain by modulating spinal TLR4 via endocannabinoid system activation.. *The Journal of pharmacy and pharmacology*. <https://doi.org/10.2139/ssrn.4199529>
- Voronkova, Y., Voronkova, O., Gorban, V., & Holoborodko, K. (2018). Oxidative stress, reactive oxygen species, antioxidants: A review. *Medical Science Journal*, 29, 52–55. <https://doi.org/10.15421/031809>
- Wang, Y., Branicky, R., Noë, A., & Hekimi, S. (2018). Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *The Journal of Cell Biology*, 217(6), 1915–1928. <https://doi.org/10.1083/jcb.201708007>
- Yalcin, I., Charlet, A., Freund-Mercier, M., Barrot, M., & Poisbeau, P. (2009). Differentiating thermal allodynia and hyperalgesia using dynamic hot and cold plate in rodents.. *The journal of pain : official journal of the American Pain Society*, 10 7, 767-73 . <https://doi.org/10.1016/j.jpain.2009.01.325>
- Yılmaz, H., & Girit, Ö. (2024). Agmatine administration alleviates nerve damage and improves nerve function in methotrexate induced peripheral neuropathy in rats. *Meandros Medical And Dental Journal*. <https://doi.org/10.69601/meandrosmdj.1535051>
- Zeynal, M., & Kadioğlu, H. (2022). All aspects of sciatic nerve injection injury: an experiment with 78 rats. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 52, 1591 - 1599. <https://doi.org/10.55730/1300-0144.5499>