



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

Facultad de Medicina

Licenciatura en Biomedicina

Instituto de Fisiología

Laboratorio de Biofísica Cardíaca

**EFFECTOS ELECTROFISIOLÓGICOS DEL CANNABIDIOL COMO
FÁRMACO ANTIEPILÉPTICO SOBRE EL CANAL DE SODIO
VOLTAJE DEPENDIENTE NAV 1.1**

Tesis que para obtener el grado de:

Lic. en Biomedicina

Presenta:

Gabriela Salomón Jiménez

Director de tesis:

Eduardo Marcos Salinas Stefanon

Noviembre 2021

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis padres por su apoyo incondicional en estos años, gracias por su amor, trabajo y sacrificio que me impulso a crecer, son los mejores padres que Dios me pudo haber dado.

A mi hermana Alejandra, valoro cada palabra de ánimo que me brindaste a lo largo de esta etapa.

A la Dra. Claudia Mancilla, sin duda tu apoyo en estos años fue crucial para llegar a este momento, gracias por tus palabras de ánimo y tu paciencia para enseñarme.

Al Dr. Eduardo Salinas por brindarme las herramientas para poder realizar esta tesis.

A mis amigas Amairani y Trilce, con las que compartí dentro y fuera del salón de clases. Me llevo grandes recuerdos a su lado.

A Guillermo, agradezco cada abrazo y palabra de amor, eres mi más grande regalo, te amo.

Pero principalmente agradezco a Dios, porque su soberanía y fidelidad estuvieron siempre presentes durante esta temporada. Pude ver sus promesas cumplidas en mi vida y este proyecto es una de ellas. A su lado lo mejor siempre estará por venir.

INDICE

1. Abreviaturas	1
2. Resumen	2
3. Introducción	3
4. Justificación	4
5. Desarrollo	5
5.1 Membrana citoplasmática	5
5.2 Transporte a través de la membrana	6
5.3 Potencial de membrana y potencial de acción	9
5.4 Canales iónicos dependientes de voltaje	12
5.5 Canales de sodio voltaje dependientes (Nav).	14
5.5.1 Estructura de los canales de sodio Voltaje Dependientes (Nav)	17
5.5.2 Potencial de Acción Neuronal y Nav 1.1	19
5.5.3 Sitios de receptores de fármacos en canales de sodio	20
5.6 Nav y Canalopatías	21
5.6.1 Epilepsia	23
5.7 Fármacos enfocados a los canales de sodio dependientes de voltaje	25
5.7.1 Antiepilépticos	26
5.7.1.1 Cannabidiol (CBD)	27
5.7.1.2 El CBD es un inhibidor de las corrientes de sodio dependientes del voltaje.	29
6. Conclusiones	32
7. Perspectivas	32
8. Anexo	34
Bibliografía	35

1. Abreviaturas

- CBD – Cannabidiol.
- FAEs – Fármacos antiepilépticos.
- GEFS+ - Epilepsia generalizada con convulsiones febriles plus.
- Nav – Canal de Sodio voltaje-dependiente.
- NavMs – Canal de Sodio procariota de Magnetococcus marinus.
- PA – Potencial de Acción.
- SD - Síndrome de Dravet.
- SNC – Sistema Nervioso Central.
- SNP – Sistema Nervioso Periférico.
- VGICs - Canales dependientes de voltaje.
- VGSC – Canales de sodio dependientes de voltaje.

2. Resumen

Los canales de sodio dependientes de voltaje (VGSC) están presentes en muchos tipos de tejidos dentro del cuerpo humano, incluidos los tejidos cardíacos y neuronales. Al igual que otros canales, los VGSC se activan, desactivan e inactivan en respuesta a cambios en el potencial de membrana. Una clase de canales iónicos activados por voltaje es el canal de sodio activado por voltaje (NaV). Estos son responsables de la generación y propagación de potenciales de acción (PA). Mediante el aumento transitorio de la permeabilidad de la membrana a los iones de sodio, estas proteínas especializadas facilitan la difusión en un gradiente electroquímico, llevando a la membrana hacia el potencial de equilibrio de sodio. Dicha despolarización forma el impulso ascendente del PA. La existencia de canales permeables a los iones, responsables de la activación por voltaje de los iones de sodio a través de la membrana, fue propuesta por primera vez en 1952 por Hodgkin y Huxley. Las diversas enfermedades asociadas con las canalopatías Nav han impulsado grandes esfuerzos para desarrollar nuevos compuestos farmacológicos potencialmente útiles. Específicamente, reducir la hiperexcitabilidad de Nav es de vital importancia para aliviar las condiciones que limitan la vida y, a veces, son letales. El cannabidiol (CBD) es otro fitocannabinoide clave que comparte una estructura similar y muchos de los efectos fisiológicos del THC sin su psicoactividad. Esta gran diferencia se debe al hecho de que el CBD tiene poca o ninguna afinidad por los receptores CB con los que interactúa el THC. En 2016 se mostró por primera vez que el CBD se encontraba con motivos de investigación prometedora como un fármaco antiepiléptico.

3. Introducción

Los canales de sodio dependientes de voltaje inician los potenciales de acción en neuronas y otras células excitables (Hille, 2001) y su disfunción causa epilepsia hereditaria y otras enfermedades hereditarias de hiperexcitabilidad. Las mutaciones en los canales de sodio son responsables de síndromes epilépticos genéticos con un amplio rango de gravedad, y el canal Nav1.1 codificado por el gen SCN1A es el objetivo más frecuente de mutaciones. Las mutaciones de pérdida total de función en Nav1.1 causan epilepsia mioclónica grave de la infancia (SMEI o síndrome de Dravet), que incluye epilepsia grave e intratable y comorbilidades de ataxia y deterioro cognitivo. Los regímenes de tratamiento estándar tienen una eficacia muy limitada para combatir las convulsiones potencialmente mortales en el síndrome de Dravet o las comorbilidades conductuales y cognitivas de la enfermedad ya que el uso de los fármacos de primera generación se asocia con eventos adversos graves, así también se han encontrado problemas en farmacorresistencia, lo que hace que el tratamiento de la epilepsia sea menos eficaz. Se cree que aproximadamente el 30-40% de las personas con epilepsia continúan sufriendo convulsiones incontroladas a pesar del tratamiento con FAE (Bialer, 2006). Recientemente ha habido un progreso alentador en el desarrollo de nuevos tratamientos para este trastorno. Uno de los avances clínicos es el Cannabidiol (CBD), un compuesto que se encuentra naturalmente en el cannabis y que se ha demostrado que reduce aún más las convulsiones en los pacientes cuando se usa junto con los regímenes de medicamentos existentes. Como muchos otros productos naturales, el mecanismo terapéutico exacto del CBD permanece indefinido.

4. Justificación

Los canales de sodio dependientes de voltaje juegan un papel importante a nivel neuronal dado que cuando en este canal presenta mutaciones, conlleva graves afecciones en estas áreas. Estos canales son críticos para la función del cerebro, corazón y musculo, por lo tanto, una mutación o defecto en las proteínas que lo construyen o una alteración a nivel farmacológico de su actividad pueden alterar de forma significativa la función de estos órganos excitables. Es por eso que es de vital importancia el estudio de los canales de sodio ya que representan uno de los principales blancos en el descubrimiento de fármacos, especialmente para los desórdenes del SNC, debido a su amplio rol en células excitables y procesos neuronales.

Durante varias décadas, los fármacos antiepilépticos (FAE) de primera generación (fenitoína, fenobarbitona, carbamazepina, ácido valproico) fueron los principales objetivos farmacológicos para el tratamiento del trastorno epiléptico. Sin embargo, el uso de estos FAE se asocia con eventos adversos graves.

Los mecanismos de los efectos anticonvulsivos del CBD no están claros y probablemente involucren vías de receptores no cannabinoides. La evaluación de los mecanismos terapéuticos y la seguridad del CBD exige una comprensión más profunda de sus interacciones con los blancos del sistema nervioso central.

5. Desarrollo

5.1 Membrana citoplasmática

La membrana plasmática es la estructura que separa a las células del exterior y esta mide aproximadamente 5 a 10 nm de espesor. Es una estructura diferenciada, y cada tipo de célula contiene en su membrana externa proteínas específicas que ayudan a mantener el medio intracelular (Arrazola, 1994). La estructura fundamental de la membrana es la bicapa lipídica la cual forma una barrera estable entre dos compartimientos acuosos. La cual está formada de 4 fosfolípidos principales (los lípidos más abundantes en la membrana celular) que son fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina y esfingomiélin y en adición a los fosfolípidos la membrana citoplasmática en mamíferos contiene glicolípidos y colesterol. (Cooper, 2018)

Los fosfolípidos más comunes son derivados del glicerol y se denominan glicerofosfolípidos o fosfoglicéridos. Estos se caracterizan por tener esterificaciones con ácidos grasos los hidroxilos de los carbonos probablemente organizados en estado líquido, de manera que las moléculas individuales de lípido pueden moverse a los lados dentro del plano de la membrana, según el modelo de mosaico fluido propuesto en 1972 por S. Jonathan Singer y Garth Nicolson de la University of California. Dicha membrana está compuesta por una gran diversidad de lípidos anfipáticos, esto quiere decir, con regiones hidrofílicas e hidrófobas (Karp, 2014)

Además de los lípidos las membranas contienen proteínas, de hecho, estas representan aproximadamente la mitad de la masa de la mayoría de las membranas celulares. Muchas de estas están incrustadas en la membrana y sobresalen por ambos lados y son denominadas proteínas transmembranales. La parte de estas proteínas que están entre las colas de hidrocarburos tienen características superficiales hidrofóbicas mientras que las que sobresalen son hidrofílicas (Cell Membranes | Learn Science at Scitable, s. f.).

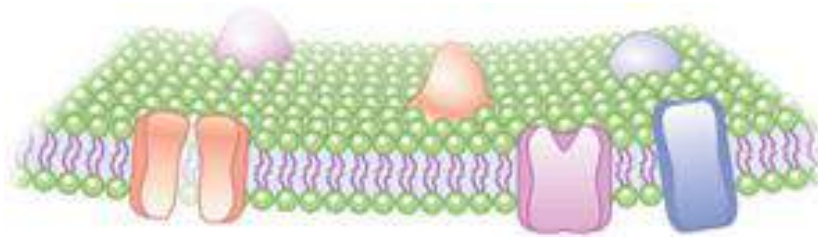


Figura 1. La bicapa de fosfolípidos con proteínas transmembranales.

Modificado de Cell Membranes. Learn Science at Scitable, s.f.

La membrana plasmática cuenta con un grosor aproximado de 7,4 nm² y no es visible al microscopio óptico, pero si es visible al microscopio electrónico. La mayoría de las proteínas transmembranales atraviesan la bicapa lipídica y median en casi todas las demás funciones de la membrana, entre estas el transporte de moléculas específicas a través de ella y la catálisis de reacciones asociadas a la membrana, como la síntesis de ATP (Alberts et al., 2014, p. 570).

Anatómicamente, estas proteínas pueden dividirse en tres grupos: proteínas periféricas, proteínas integrales y proteínas ancladas a lípidos (Silverthorn, 2015).

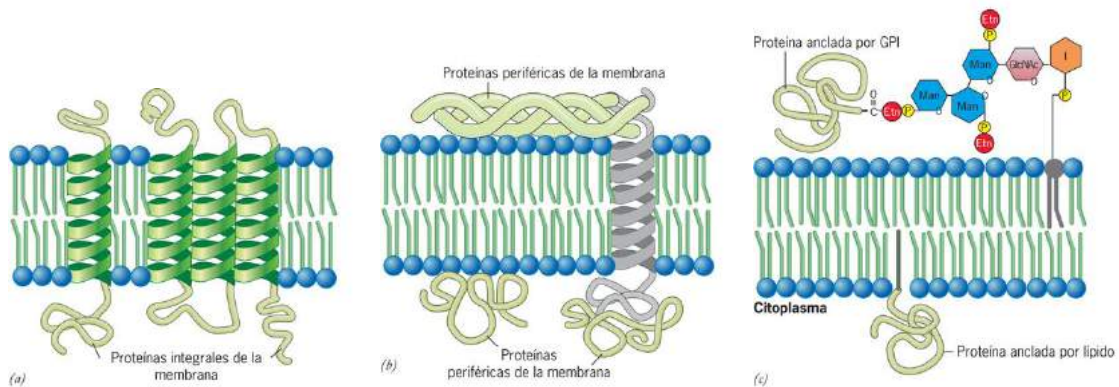


Figura 2. Tres clases de proteínas de membrana. Imagen modificada de Karp, 2014

5.2 Transporte a través de la membrana

Los fenómenos de transporte son los cambios que se presentan en un sistema para poder restaurar el equilibrio cuando en algunas partes del sistema presentan condiciones físicas diferentes. La membrana plasmática es una barrera selectivamente permeable entre la célula y el entorno extracelular. Las propiedades de permeabilidad que poseen aseguran que las moléculas como los aminoácidos, los lípidos y la glucosa ingresen fácilmente a la célula, los

intermediarios metabólicos se mantengan en la célula y los compuestos de desecho abandonen la célula (Lodish y Zipursky, 2001).

Debido a su interior hidrofóbico, la bicapa lipídica de las membranas celulares restringe el paso de la mayoría de las moléculas polares. Esta función de barrera permite a la célula mantener concentraciones de solutos en su citosol que difieren de las del líquido extracelular y en cada uno de los compartimentos cerrados por la membrana intracelular.

El transporte de sustancias a través de las membranas celulares se realiza mediante diversos tipos de mecanismos. Dichas sustancias pueden ser transportadas a favor de un gradiente electroquímico (descendente) o en contra de un gradiente electroquímico (ascendente). El transporte ascendente se expresa por transporte activo, y este puede ser primario o secundario. El transporte activo primario y secundario se distingue entre sí por la fuente de energía. El transporte activo primario requiere un aporte directo, a diferencia del secundario donde este utiliza un aporte indirecto de energía metabólica. Existen otras diferencias entre los mecanismos de transporte donde se basan en si el proceso incluye una proteína transportadora. La única forma de transporte que no está mediada por una proteína transportadora es la difusión simple. En la difusión facilitada, intervienen proteínas integrales de membrana en el transporte activo primario y secundario y se denomina transporte mediado por transportador. Cualquier forma de transporte que es mediado por transportador comparte tres características: estereoespecificidad, competición y saturación (Constanzo, 2018).

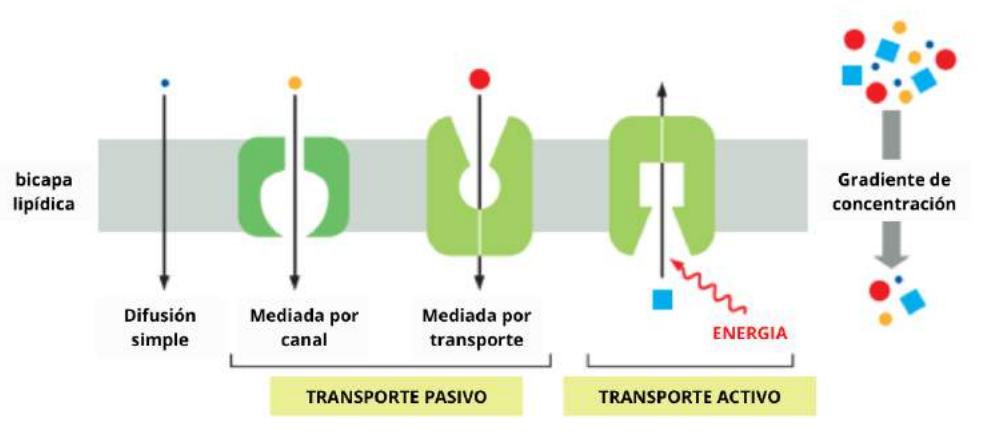


Figura 3. *Diferentes formas de transporte de membrana y la influencia de la membrana. Imagen modificada de Alberts et al., 2014.*

La bicapa lipídica que constituye el centro de las membranas biológicas es muy impermeable a sustancias con carga, incluidos iones pequeños como Na^+ , K^+ , Ca^{2+} y Cl^- . Sin embargo, el movimiento rápido nombrado conductancia, de estos iones a través de la membrana posee una función relevante en variadas actividades celulares, entre ellas la secreción de sustancias al espacio extracelular, la formación y propagación de un impulso nervioso, regulación del volumen celular, contracción muscular y la apertura de estomas en las hojas de las plantas. En 1955, Alan Hodgkin y Richard Keynes de Cambridge University plantearon que las membranas celulares incluyen conductos iónicos, esto quiere decir que poseen aberturas en la membrana que son permeables a iones específicos. Durante finales de los años 1960 y 1970, Bertil Hille de la University of Washington, y Clay Armstrong de la University of Pennsylvania comenzaron a obtener evidencia sobre la existencia de tales conductos. La “prueba” final fue obtenida en Alemania a finales del decenio de 1970 y principios de 1980 del trabajo de Bert Sakmann y Erwin Neher en el Max-Planck Institute, quien desarrolló nuevas técnicas para vigilar la corriente iónica por un solo conducto iónico. Esto fue posible a través de microelectrodos en una pipeta muy fina hecha de vidrio pulido que fue colocada en la superficie celular externa y se selló sobre la membrana por succión. El voltaje a través de la membrana puede mantenerse (pinzarse) en cualquier valor particular, y medirse la corriente que se origina en el pequeño parche de membrana rodeado por la pipeta. Estos estudios cruciales marcaron las primeras investigaciones exitosas sobre las actividades de moléculas proteínicas individuales (Karp, 2014).

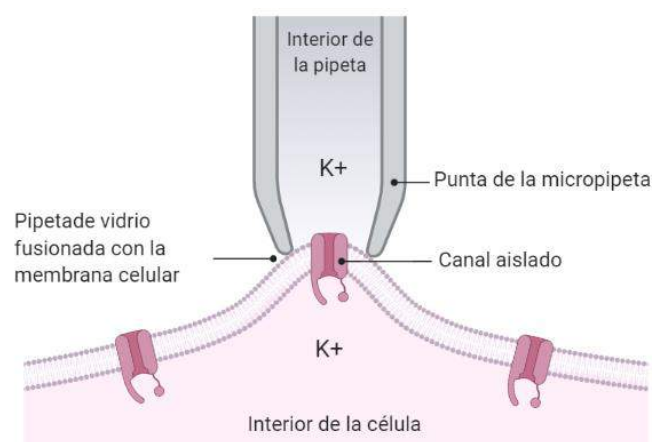


Figura 4. Registro de pequeñas áreas de membrana mediante la técnica de patch clamp.

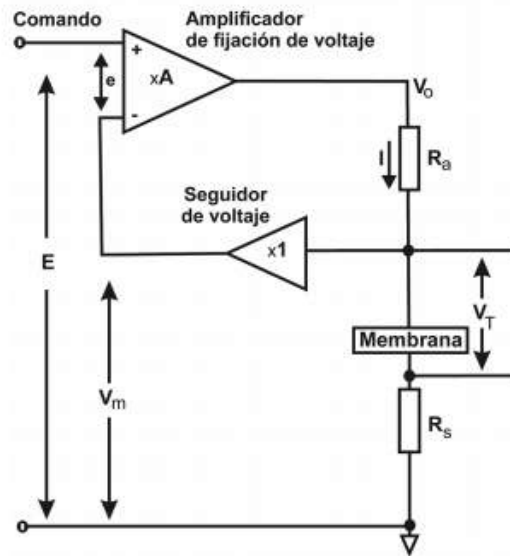


Figura 5. Esquema simplificado de un circuito para fijación de voltaje. El seguidor de voltaje mide el potencial de membrana V_m , en tanto que el amplificador compara este valor con el voltaje de comando e e inyecta una corriente proporcional a la diferencia de potencial determinada por dicha comparación. Modificada de Halliwell et al., 1994.

5.3 Potencial de membrana y potencial de acción

Por medio de las membranas de diversas células del organismo existen potenciales eléctricos. También, algunas células como las musculares y las nerviosas, son “excitables” esto quiere decir, son capaces de autogenerar impulsos electroquímicos en sus membranas. En diversos casos, dichos impulsos pueden ser utilizados para transmitir señales a lo largo de las membranas.

En otros tipos de células, tales como células glandulares, macrófagos y células ciliadas, otros tipos de cambios en los potenciales de membrana probablemente representan papeles importantes en el control de muchas de las funciones celulares (Hall, 2016).

El potencial de membrana representa un equilibrio entre los potenciales de equilibrio de los iones a los que la membrana es permeable. Cuanto mayor sea la conductancia de un ion, más influirá ese ion en el potencial de membrana de la célula. Las principales conductancias responsables de establecer el potencial de membrana en reposo son las del cloruro, el potasio y el sodio (Ramahi y Ruff, 2014).

Las membranas plasmáticas de la mayoría de las células están polarizadas desde el punto de vista eléctrico, lo cual viene señalado por la presencia de un voltaje transmembrana, o potencial de membrana, en el rango de 0,1 V. Desde el punto de vista eléctrico, las células que son excitables, así como los miocitos cardiacos y las neuronas cerebrales, también usan esta energía con la finalidad de generar señales. Los impulsos eléctricos breves producidos por dichas células se denominan potenciales de acción (Constanzo, J; 2016).

Cuando hay un exceso de iones positivos en un punto y un exceso de iones negativos en el otro punto es que se produce un voltaje (o diferencia de potencial eléctrico entre esos dos puntos, como el interior y el exterior de la membrana plasmática. Numerosas células como las musculares y nerviosas por ser excitables, son competentes para generar impulsos eléctricos que se propagan a través del tejido, en muchos de los casos dichos impulsos pueden ser utilizados para transmitir señales a través de las células musculares o nerviosas. Cuando este experimento fue llevado a cabo por primera vez en un axón gigante de calamar, fue registrada una diferencia de potencial que era cercana a 70 mili voltios (mV), donde el interior era negativo respecto al exterior (indicado por un signo menos, -70 mV)

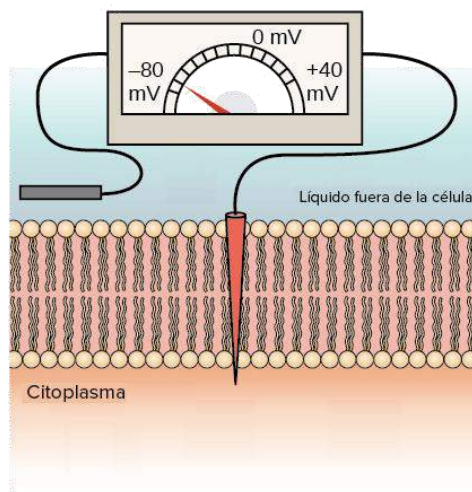


Figura 6. *Medición del potencial de membrana en una célula nerviosa con un microelectrodo. (Modificado de OpenStax College, Biología).*

Las fases del potencial de acción son las siguientes.

Fase de Reposo. Es el potencial de membrana en reposo que es antes del inicio del potencial de acción. Se plantea que la membrana esta “polarizada” a lo largo de esta fase a causa del potencial de membrana que es negativo de -90mV que se encuentra presente.

Fase de despolarización. En el momento del inicio de esta fase la membrana se hace repentinamente permeable a los iones sodio, y esto permite que un número grande de iones que poseen carga positiva puedan difundir al exterior del axón. Un estado polarizado normal de -90mV es neutralizado de manera inmediata a causa de la entrada de iones sodio que están cargados positivamente, y el potencial aumenta de manera rápida en dirección positiva. A esto se le conoce como despolarización. En las fibras nerviosas grandes el gran exceso de iones que son positivos de sodio se mueven hacia el interior y esto provoca que el potencial de membrana se “sobreexcite” más allá del nivel cero y que se haga algo positivo. En las fibras nerviosas que son más pequeñas, como en muchas neuronas del sistema nervioso central, el potencial sencillamente se aproxima al nivel cero y no existe sobreexcitación hacia el estado positivo.

Fase de repolarización. Pasado el momento en el que la membrana se hace muy permeable a los iones sodio en un plazo de diezmilésimas de segundo, es cuando los canales de sodio empiezan a cerrarse y los canales de potasio se abren más de lo normal. Es así como, la rápida difusión de los iones potasio hacia el exterior puede reestablecer el potencial de membrana en reposo negativo normal. Esto es nombrado como repolarización de la membrana (Hall, 2016).

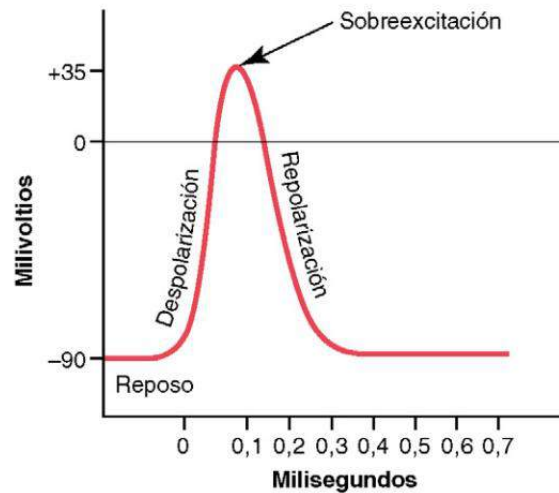


Figura 7. *Potencial de acción típico registrado por el método que se muestra en la parte superior de la figura. Imagen tomada de Guyton y Hall, 2016.*

5.4 Canales iónicos dependientes de voltaje

Los canales dependientes de voltaje (VGICs) son proteínas transmembranales que juegan un papel importante en la señalización eléctrica de las células, la actividad de los VGIC está regulada por el potencial de membrana de una célula y los canales abiertos permiten el movimiento de iones a lo largo de un gradiente electroquímico a través de las membranas celulares. Dependiendo de los iones conducidos, las VGIC pueden clasificarse como canales de sodio, potasio, calcio o cloruro controlados por voltaje (Nardi, Damann, Hertrampf y Kless, 2012).

Se piensa que los canales dependientes de voltaje están formados por tres partes básicas (el sensor de voltaje, el poro o vía de conducción y la puerta), estas partes pueden identificarse aproximadamente en la estructura secundaria del canal (Bezanilla, 2007). En el caso de los canales activados por voltaje, el sensor es constituido por un segmento transmembrana que incluye varios aminoácidos cargados que se mueve en el campo eléctrico de la membrana durante la apertura o cierre del canal (Martínez, 2004; Guharay y Sachs, 1984). Los canales iónicos están controlados por compuertas y, según la posición de las mismas, los canales pueden estar abiertos o cerrados. Los iones que son selectivos para un canal pueden atravesarlo cuando este está abierto, en favor del gradiente electroquímico que existe. Cuando este canal está cerrado, el paso de los iones no es posible, no importando el tamaño del gradiente electroquímico.

La conductancia de un canal va a depender de la probabilidad de que este abierto. Cuanto mayor es ésta, mayor es su permeabilidad o conductancia. La apertura y el cierre de los canales iónicos están controlados por dos tipos de compuertas. Los canales que son dependientes de voltaje se abren y se cierran respondiendo a cambios en el potencial de membrana. Los canales que son dependientes del ligando pueden abrirse y cerrarse respondiendo a la unión de ligandos como segundos mensajeros, hormonas o neurotransmisores (Constanzo, 2018)

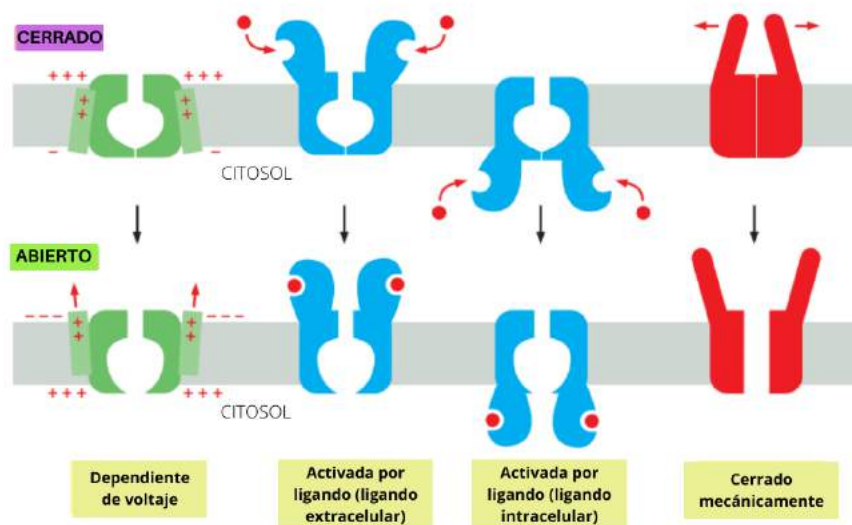


Figura 8. La puerta de los canales iónicos. Este dibujo esquemático muestra varios tipos de estímulos que abren canales iónicos. Los canales cerrados mecánicamente a menudo tienen extensiones citoplásmicas (no mostradas) que unen el canal al citoesqueleto. Modificada de *Alberts et al, 2014.*

La estructura entre las diferentes familias varía, pero en muchos casos existe un denominador común. Los Cav (Voltage-dependent calcium channels), Kv (Voltage-gated potassium channels), KCa (Calcium-activated potassium channel), CNG (Cyclic nucleotide-gated ion channels) y TRP (Transient Receptor Potential) constan, mayoritariamente, de seis dominios (DI-DVI), poseyendo cada uno 6 segmentos transmembrana. Entre los segmentos S5 y S6 se encuentran las secuencias que constituyen el poro y el filtro de selectividad. En la mayoría de ellos, el S4 presenta una serie de aminoácidos cargados positivamente que actúan como sensor de voltaje, detectando los cambios en el potencial de membrana. (Martínez, 2004).

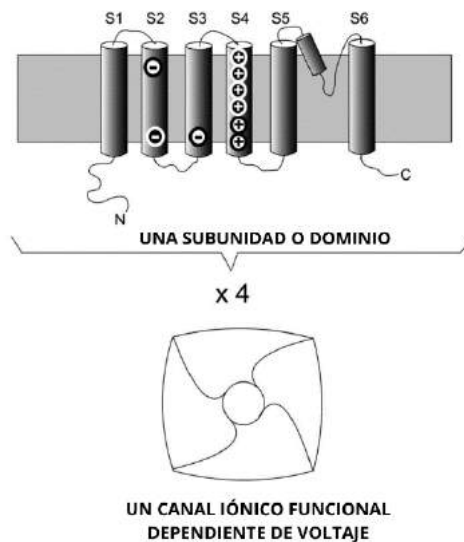


Figura 9. *Arquitectura general de canales controlados por voltaje. La parte superior muestra la subunidad básica (o dominio en el caso de los canales de Na y Ca). El fondo gris representa las bicapas lipídicas. Los cilindros son segmentos transmembranales. La región entre S5 y S6 forma el poro. Los segmentos 1 a 4 se denominan parte del sensor de voltaje del canal. Los signos + o - en blanco indican cargas que han estado implicadas en la detección de voltaje. En la parte inferior, una vista esquemática del canal desde el exterior mostrando las cuatro subunidades o dominio ensamblados. Imagen modificada de Bezanilla, 2007.*

5.5 Canales de sodio voltaje dependientes (Nav).

En la década de 1940 al 1950, Hodgkin y Huxley sugirieron la presencia de poros que permitían la permeabilidad selectiva de los iones Na^+ y K^+ que fueran dependientes en la despolarización de membrana y daban forma a los potenciales de acción (Hodgkin & Huxley, 1945, 1952). Los canales iónicos activados por voltaje son determinantes fundamentales de la excitabilidad intrínseca en las neuronas (Hille, 2001). Los cambios en la expresión, localización y función de los canales iónicos subyacen a los cambios en la excitabilidad neuronal (Nusser, 2011).

Los Canales de sodio voltaje dependientes (Navs) son proteínas transmembranales heteroméricas que se activan en respuesta a la despolarización de la membrana y juegan un papel muy importante en la generación y propagación de potenciales de acción en neuronas y otras células eléctricamente excitables a través del control del flujo de iones Na^+ mediante las

membranas celulares. Los Navs pertenecen a la superfamilia de canales iónicos activados por voltaje (de Lera Ruiz & Kraus, 2015).

Existen diferentes tipos de canales de sodio que han sido registrados a través de registros electrofisiológicos, purificaciones bioquímicas y clonación. Se han identificado 9 isoformas de canal de sodio voltaje dependiente, las cuales poseen alrededor de un 50% de identidad en sus secuencias aminoacídicas (Catterall, W. A. *et al.* 2005).

Los canales de sodio dependientes de voltaje (VGSC) están presentes en muchos tipos de tejidos dentro del cuerpo humano, incluidos los tejidos cardíacos y neuronales. Al igual que otros canales, los VGSC se activan, desactivan e inactivan en respuesta a cambios en el potencial de membrana. Una clase de canales iónicos activados por voltaje es el canal de sodio activado por voltaje (NaV) (Ruben, P; 2016). La expresión de los canales de sodio dependientes de voltaje (NaV) es una característica clave para la iniciación y conducción de potenciales de acción en tejidos y células excitables, como el músculo cardíaco, esquelético y las neuronas.

La subunidad α de los canales de sodio esta codificada por 10 genes, los cuales están expresados en diferentes tejidos excitables. Nav 1.1, Nav 1.2, Nav 1.3 y Nav 1.6 son los canales de sodio primarios en el sistema nervioso central (SNC). Nav 1.8 y Nav 1.9 son los canales de sodio primarios en el sistema nervioso periférico (SNP). Nav 1.4 es el canal primario en el musculo esquelético mientras que Nav 1.5 es el primario en corazón. (Tabla 1).

Canal	Expresión tisular	Funciones fisiológicas
<i>Na_v1.1</i>	SNC, SNP (Neuronas centrales: localizadas principalmente en los cuerpos celulares; miocitos cardíacos).	Iniciación del PA, acoplamiento excitación-contracción en miocitos cardíacos.
<i>Na_v1.2</i>	SNC, SNP (Neuronas centrales: localizadas principalmente en axones amielínicos y premielinizados.).	Iniciación y conducción del PA; disparo repetitivo.
<i>Na_v1.3</i>	SNC, SNP (Neuronas centrales: expresadas principalmente en la etapa embrionaria y prenatal temprana; miocitos cardíacos).	Iniciación y conducción del PA; disparo repetitivo.
<i>Na_v1.4</i>	Musculo esquelético (Niveles altos en musculo esquelético adulto y niveles bajos en el neonatal).	Iniciación y transmisión del PA en el músculo esquelético.
<i>Na_v1.5</i>	Musculo cardiaco (Miocitos cardíacos, músculo esquelético inmaduro y denervado, ciertas neuronas cerebrales.).	Iniciación y conducción del PA.
<i>Na_v1.6</i>	SNC, SNP (Distribución somatodendrítica en las neuronas de salida del cerebelo, la corteza cerebral y el hipocampo; Células de Purkinje; tronco encefálico; medula espinal; astrocitos y células de Schwann).	Iniciación y transmisión del PA, en neuronas centrales y sus axones mielinizados.
<i>Na_v1.7</i>	SNP (Neuronas simpáticas, células de Schwann y células neuroendocrinas).	Iniciación y transmisión del PA en neuronas periféricas.
<i>Na_v1.8</i>	SNP (Neuronas DRG pequeñas y medianas y sus axones.)	Corriente de entrada subyacente al PA en las neuronas DRG. Agrega un componente de corriente de sodio que se inactiva lentamente.
<i>Na_v1.9</i>	SNP (Neuronas DRG, del trigémino y sus axones, neuronas nociceptivas).	Influencia despolarizante al potencial de reposo, amplifica las despolarizaciones subumbrales lentas.

Tabla 1. *Expresión tisular y funciones fisiológicas de la familia de canales de sodio dependientes de voltaje. (de Lera y Kraus, 2015, Catterall, Goldin y Waxman, 2005, Clare, Tate, Nobbs y Romanos, 2000, Nardi, Damann, Hertrampf y Kless, 2012)*

5.5.1 Estructura de los canales de sodio Voltaje Dependientes (Na_v)

Cada una de las variantes de los canales de sodio dependientes de voltaje comparte una estructura común (Goldin, 1999). La subunidad alfa es la subunidad más grande presente en el canal de sodio. Las subunidades de proteínas del canal de sodio se identificaron mediante marcaje de fotoafinidad con un derivado de la toxina del escorpión (Beneski y Catterall, 1980) donde identificaron grandes subunidades alfa de 260 kDa y subunidades beta de menor tamaño de 30 – 40 kDa. Las subunidades beta más pequeñas están asociadas y modulan el canal, pero la subunidad alfa sola es suficiente para conducir el sodio (Egri et al. 2012). Los VGSC también tienen una estructura similar a otros canales: 24 segmentos transmembrana dispuestos en cuatro dominios que rodean un poro central.

La estructura y la actividad eléctrica de estos canales les permite crear y responder a señales eléctricas en el cuerpo (Kwong y Carr, 2015). Cada uno de los cuatro dominios del canal Na_v consta de un dominio sensor de voltaje formado por los primeros cuatro segmentos transmembrana (D1–D4) y un dominio de poro que consta de los segmentos transmembrana cinco y seis, así como el enlazador extracelular entre estos dos segmentos (el bucle p) (Payandeh et al. 2011). Cada dominio de la subunidad α está compuesto por 6 hélices transmembrana organizadas en dos módulos funcionales. Los primeros cuatro segmentos (S1-S4) forman el módulo de detección de voltaje (VS), mientras que los últimos dos segmentos (S5-S6) y un bucle P entre ellos, forma el módulo de poros (PM). (Figura 5).

Los VS y PM están conectados por el conector α -hélice S4-S5. El conector intracelular de DIII y DIV sirve como puerta de inactivación rápida, que cierra el poro dentro de 1 a 2 ms después de la apertura. (Payandeh et al., 2011)

A lo largo de diversos estudios se definió la estructura de la subunidad del canal de sodio, estableciendo el principio de que los canales iónicos están compuestos por subunidades primarias formadoras de poros en asociación con subunidades auxiliares.

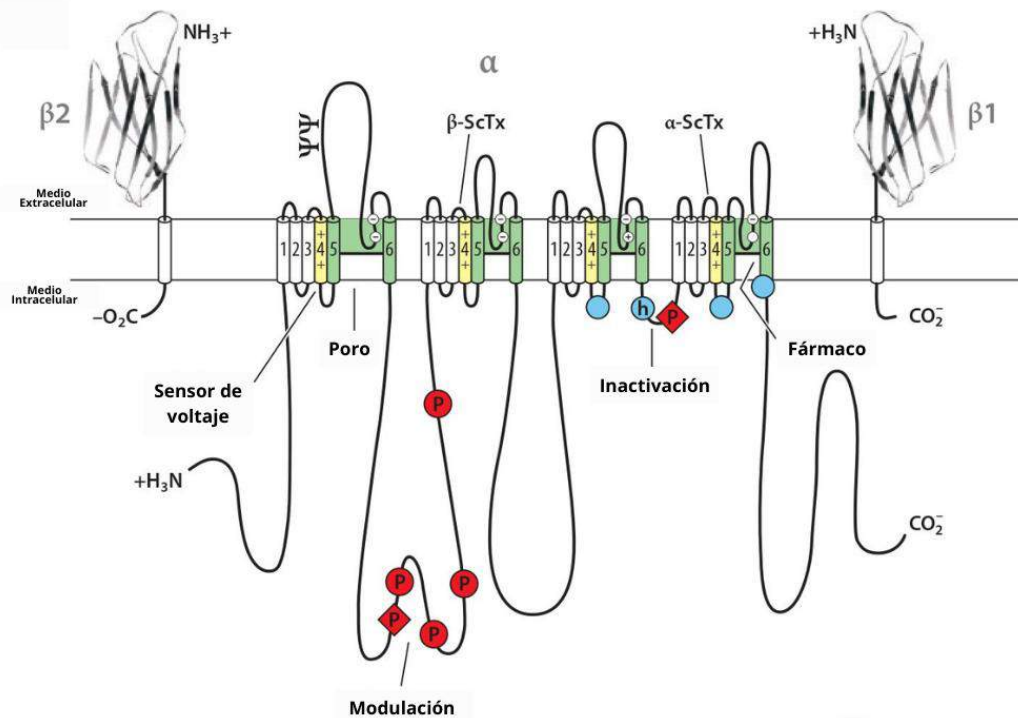


Figura 10. Organización transmembrana de las subunidades de los canales de sodio. Modificada de Catterall, W. A. et al. 2005

Los segmentos helicoidales transmembrana S1, S2, S3 y S4 comprenden los cuatro dominios de detección de voltaje (VSD) en DI a DIV. Están ubicados en el borde exterior en cada esquina de la subunidad Nav α (Figura 10). La hélice S4 constituye el sensor de voltaje de cada VSD. Ha evolucionado hacia un dominio anfipático con una cara cargada positivamente. En respuesta a los cambios en el campo eléctrico producidos por la despolarización de la membrana, el S4 se desplaza hacia la zona extracelular iniciando cambios conformacionales, que a su vez abren el poro. Los tres S4 de DI, DII y DIII muestran una cinética más rápida en respuesta a la despolarización y permiten que los cationes de sodio ingresen a las células. El S4 del DIV responde más lentamente. Su movimiento libera un conector intracelular llamado puerta de inactivación IFM. Contiene tres residuos lipofílicos (isoleucina, fenilalanina, metionina) y conecta el S6 DIII al S1 DIV. Como resultado, la puerta de inactivación se mueve para ocluir el poro y lleva al canal a un estado inactivo. Por tanto, la activación e inactivación del canal están vinculadas de forma estructural, mecánica y funcional. (Villa-Diaz, Lopez-Nunez, Ruiz-Castelan, Salinas-Stefanon; 2020). Además de inhibir las corrientes de sodio, los fármacos

retrasaron significativamente la inactivación rápida sin afectar la recuperación de la inactivación, desplazando además a potenciales más hiperpolarizados la curva de inactivación (Paiz-Candia et al, 2017; Salinas-Stefanon et al., 2011)

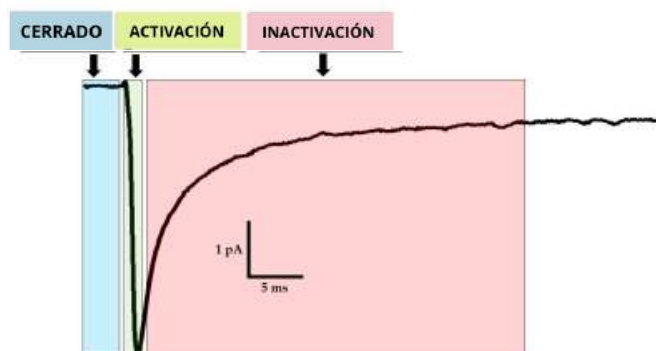


Figura 11. Una corriente de membrana típica de *Rattus norvegicus* de la isoforma *Nav1.4* responde a un pulso despolarizante que refleja los tres estados principales de activación; Puerta de inactivación de IFM: rojo; Sensores de tensión S4: azul cielo. Imagen modificada de Villa-Díaz, Lopez-Nunez, Ruiz-Castelan, Salinas-Stefanon y Scior, 2020)

5.5.2 Potencial de Acción Neuronal y Na_v 1.1

Los canales $Na_v1.1$ están altamente expresados en muchas neuronas inhibitorias GABAérgicas y son responsables de esencialmente toda la corriente de sodio en los cuerpos celulares de las interneuronas del hipocampo (Frank, Mantegazza, Westenbroek, Robbins, Kalume, Burton y Catterall, 2006). Esta proteína está codificada por el gen *SCN1A*, dicho gen se encuentra en el cromosoma 2 de los seres humanos (Meisler, O'Brien y Sharkey, 2010).

$Nav1.1$ es regulado por neurotransmisores que actúan a través de receptores acoplados a proteína G donde activan la proteína quinasa A, como la dopamina, acetilcolina y serotonina (Cantrell y Catterall, 2001). $Nav1.1$ es una proteína transmembrana de 260 kDa con cuatro dominios homólogos (D1 a D4) que comprende la subunidad alfa formadora de poros de un canal de sodio dependiente de voltaje. La subunidad alfa está asociada con una o más subunidades beta en diferentes tejidos. Cada dominio de la subunidad alfa contiene seis segmentos transmembrana (S1 a S6). El segmento S4 de cada dominio es responsable de conferir las propiedades de activación de voltaje del canal. Hasta la fecha, 4 de las 15 mutaciones de *SCN1A* GEFS + se han

localizado en segmentos S4, lo que confirma la importancia de este dominio en la función del canal (Barela, Waddy, Lickfett, Hunter, Anido, Helmers y Escayg, 2006).

Durante una investigación se supuso que los canales Nav1.1 están implicados en la propagación de señales sinápticas desde las dendritas al soma y en la integración de señales eléctricas dentro del soma antes del inicio de los potenciales de acción axonales (Trimmer y Rhodes, 2004). De hecho, Nav1.1 es el principal canal de Na⁺ dependiente de voltaje en varias clases de interneuronas GABAérgicas, y su actividad reducida conduce a una excitabilidad reducida y una disminución del tono GABAérgico (Han, et al., 2012); de hecho, la pérdida de los canales Nav1.1 en las neuronas GABAérgicas del prosencéfalo es necesaria y suficiente para causar epilepsia y muerte prematura en el síndrome de Dravet (Cheah, et al., 2012). Además, la distribución de Nav1.1 se concentra en un subcompartimiento del segmento inicial axonal en las neuronas de la médula espinal que incluyen el 80% de las neuronas motoras y en múltiples áreas del cerebro y esta expresión sugiere que está involucrada en el control de la generación y propagación del potencial de acción.

5.5.3 Sitios de receptores de fármacos en canales de sodio

Los canales de sodio son bloqueados por fármacos que se utilizan clínicamente como anestésicos locales, antiarrítmicos y antiepilépticos. Los estudios de mutagénesis dirigida al sitio han revelado el sitio del receptor para anestésicos locales y fármacos relacionados, donde están formados por aminoácidos en los segmentos S6 en el dominio I, III y IV (Figura 5) (Ragsdale, McPhee, Scheuer y Catterall; 1994. Wang, Quan y Wang, 1997). Dichos fármacos se unen al sitio receptor común en el poro e impiden el paso de los iones. Los residuos de aminoácidos que forman los sitios receptores de los bloqueadores de los canales de sodio recubren las superficies internas de los segmentos S6 y crean un sitio receptor de fármacos tridimensional cuya ocupación es bloquear el poro (Figura 12)

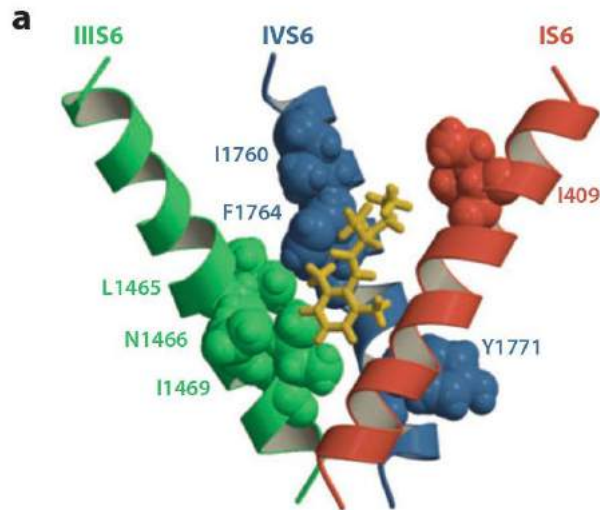


Figura 12. Modelo de sitio receptor de fármacos. Los segmentos S6 de los dominios I, III y IV de los canales $Na_v1.2$ se ilustran como cintas helicoidales. Las cadenas laterales de residuos de aminoácidos han demostrado que son necesarias para la unión del fármaco mediante mutagénesis dirigida al sitio. El fármaco unido etidocaína está en color amarillo. Imagen tomada de de Lera, 2015.

Las ubicaciones de unión se han examinado utilizando diseños moleculares en varios estudios con diversos métodos. Martin, Chao y Corry en 2014 utilizaron simulaciones de equilibrio comenzando con fármacos en el poro y simulaciones metadinámicas para localizar las posiciones más probables dentro del poro de Na_vAb . Encontraron dos sitios probables para la benzocaína y la fenitoina usando cada uno de los métodos. Se encontraron sitios similares utilizando simulaciones de dos anestésicos inhalatorios (Raju, Barber, LeBard, Klein y Carnevale, 2013) donde se encontraron sitios de unión adicionales, un sitio extracelular en la parte superior del filtro de selectividad entre bucles P un sitio de unión en la “esquina” formado por N-terminal de una hélice S6, y el C-terminal de la hélice que une las hélices S4-S5.

5.6 Na_v y Canalopatías

Existen diversas canalopatías centradas en los canales de sodio, de las cuales las principales abarcan trastornos neuronales y cardiacos. Su expresión inadecuada se ha relacionado con una serie de afecciones patológicas relacionadas con la generación y conducción del potencial de acción tanto

neuronal y cardiaco alterado (Massimo, Giulia, Giuseppe, David y Massimo, 2010).

Los canales Nav1.1, están codificados por el gen SCN1A, las mutaciones son expresadas principalmente en cuerpos celulares, segmentos iniciales de axón y los nodos de Ranvier en el Sistema Nervioso Central (Payandeh et al., 2011; Ragsdale, 2008; Stemkowski et al., 2012). Mutaciones en dicho gen del canal de sodio es responsable de los síndromes de epilepsia. Las mutaciones completas de pérdida de función de Nav1.1 causan epilepsia mioclínica severa en la infancia (Ragsdale, 2008; Stemkowski et al., 2012). Los defectos genéticos en los genes que codifican 2 subunidades α formadoras de poros (SCN1A y SCN2A) y la subunidad $\beta 1$ accesoria (SCN1B) son responsables de un grupo de síndromes de epilepsia con características clínicas superpuestas, pero severidad clínica divergente (Catterall, 2014; Ragsdale, 2008; Stemkowski et al., 2012).

Los datos de análisis sugieren que las mutaciones de la epilepsia causan una amplia gama de efectos sobre la función de Nav1.1, al menos algunos de los cuales parecen compatibles con la hiperexcitabilidad neuronal. Lossin en 2002 caracterizó varias mutaciones Nav1.1 en GEFS+ (Generalized epilepsy with febrile seizures plus) que en células tsA201 derivadas de HEK forman canales que no se inactivan de forma estable. Arrojando como resultado que las corrientes de sodio de células con la mutación en el canal de sodio no se despolarizan completamente hasta la línea de base, creando una pequeña corriente "persistente" sostenida (Figura 6). Aunque esta corriente persistente anormal es sólo un pequeño porcentaje de la corriente transitoria máxima, dura mucho tiempo después de que la corriente transitoria se ha desactivado y puede afectar profundamente la electrofisiología neuronal.

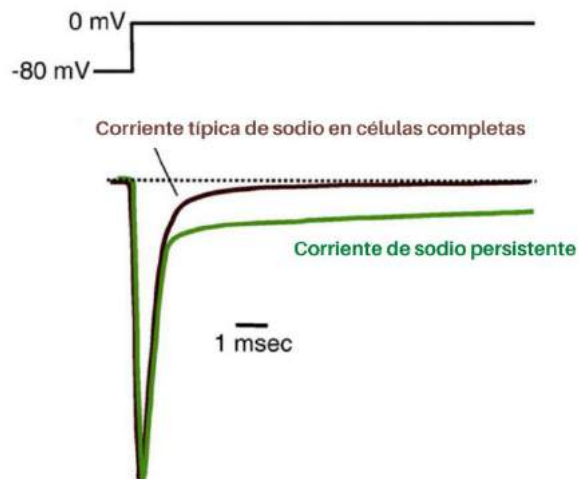


Figura 13. Superposición de la corriente de sodio típica de células completas (línea roja) y la corriente de sodio con un componente persistente anormalmente grande (línea verde). Imagen modificada de Ragsdale, 2008.

5.6.1 Epilepsia

La epilepsia se caracteriza por la aparición de convulsiones espontáneas, que consisten en grandes poblaciones de neuronas cerebrales que exhiben ráfagas de descargas sincrónicas. Un ataque epiléptico se define conceptualmente como: “una aparición transitoria de signos y / o síntomas debido a una actividad neuronal anormal excesiva en el cerebro”. Esta definición fue actualizada por última vez por la Liga Internacional contra la Epilepsia (ILAE) (Fisher, Boas, Blume, Elger, Genton, Lee y Engel, 2005). Las convulsiones pueden afectar la función sensorial, motora y autónoma; conciencia; estado emocional; memoria; cognición; o comportamiento. No todas las convulsiones afectan a todos estos factores, pero todas influyen en al menos uno. La epilepsia no es una afección, sino una familia de trastornos diversos, que tienen en común una predisposición anormal a las convulsiones (Scheffer, French, Hirsch, Jain, Mathern, Moshé y Zuberi, 2016).

La epilepsia es clasificada como una canalopatía, debido a que los estudios genéticos de pacientes con dicha condición mostraron una amplia gama de mutaciones, que predominan entre los genes codificantes a los canales iónicos. Principalmente mutaciones en los genes de los canales de sodio dependientes de voltaje, donde su mayoría se identificó en el gen SCN1A (Escayg, Heils,

MacDonald, Haug, Sander y Meisler, 2001). Dichas mutaciones en este gen son asociadas con epilepsia generalizada con convulsiones febriles (FS), encefalopatía epiléptica grave (EE) y síndrome de Darvet (SD).

La excitabilidad intrínseca aberrante en neuronas individuales dentro de las redes contribuye a la actividad neuronal sincrónica que conduce a convulsiones. Una variedad de mecanismos que trabajan para alterar la expresión, localización y función de los canales iónicos activados por voltaje conducen a una excitabilidad intrínseca aberrante. Entre las conductancias iónicas intrínsecas que gobiernan la excitabilidad neuronal, las corrientes de K^+ (K_v) controladas por voltaje y de Na^+ (Na_v) controladas por voltaje desempeñan funciones complejas y fundamentalmente importantes en el ajuste fino de la actividad celular y de la red.

Si bien los canales K_v y Na_v se encuentran en todas las neuronas, los que se encuentran en el segmento inicial del axón (AIS) desempeñan un papel único y especialmente importante en la generación de salida neuronal en forma de potenciales de acción axonales (Bender y Trussell, 2012) y potenciales de acción de retro propagación. Que invaden el soma y el árbol dendrítico para influir en eventos computacionales e integradores (Hu et al., 2009).

Diversos trabajos sugieren que las corrientes persistentes de Na^+ tienen un papel central en la actividad anormal que produce la epilepsia, ya que muchos de los fármacos anticonvulsivos actúan bloqueando los canales de Na^+ (Rogawski y Porter 1990). La corriente de sodio dependiente de voltaje de inactivación rápida (I_{Na}) es la corriente principalmente responsable de la fase despolarizante del potencial de acción y, por tanto, es la corriente esencial para la excitación neuronal en general. En consecuencia, puede considerarse indispensable también para la generación de actividad epiléptica. La transmisión de señales en las redes neuronales y, por tanto, la sincronización entre neuronas como proceso característico de la epilepsia, son impensables sin la existencia de corrientes de sodio (Köhling, 2002). Su evidencia sobre su papel crucial puede observarse en que al momento de presentar episodios epilépticos ejercen su efecto aumentando las corrientes de sodio.

Dado que la epilepsia es un trastorno de la hiperexcitabilidad de una red, una expectativa tacita ha sido que las mutaciones de la epilepsia alteren el comportamiento de los canales de sodio de manera que aumenten la excitabilidad de las neuronas que expresan canales mutantes. De hecho, varios estudios demuestran efectos sobre el comportamiento de los canales de sodio, que son consistentes con esta hipótesis (Spampanato, Escayg, Meisler y Goldin, 2001). Los genes asociados con más frecuencia con las formas hereditarias de epilepsia codifican los canales de sodio cerebral Nav1.1 y Nav1.2. La identificación de pacientes con epilepsia hereditaria condujo primero a la identificación de mutaciones de los canales Nav1.1 en el trastorno de epilepsia autosómico dominante GEFS+ (epilepsia generalizada con convulsiones febriles plus) (Escayg, MacDonald, Meisler, Baulac, Huberfeld y Malafosse, 2000).

El síndrome de Dravet (SD, también conocido como epilepsia mioclónica grave de la infancia) es una forma de epilepsia mucho más grave que la antes mencionada, donde sorprendentemente se identificó mutaciones familiares en SCN1A, así como en la epilepsia GEFS+. (Claes, Del-Favero, Ceulemans, Lagae y De Jonghe; 2001).

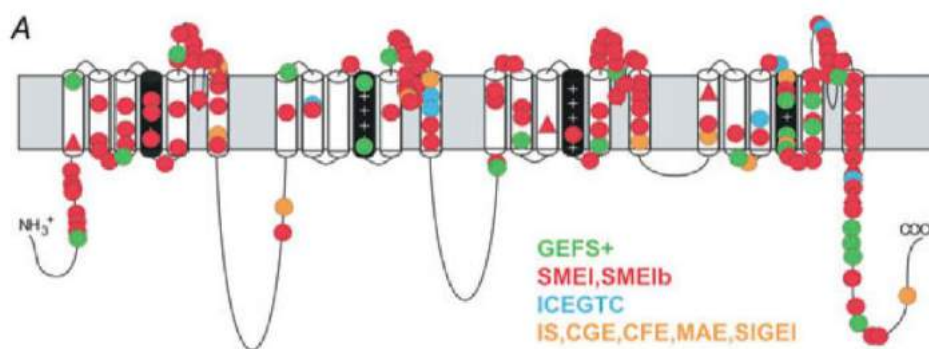


Figura 14. Mutaciones de epilepsias sin sentido (círculos) y deleciones dentro del marco (triángulos). Imagen modificada de Catterall, Kalume y Oakley, 2010.

5.7 Fármacos enfocados a los canales de sodio dependientes de voltaje

La apreciación actual del uso de bloqueadores de los canales de sodio en el tratamiento de dolor neuropático y epilepsia representa la convergencia de una serie de avances en el conocimiento científico. Las mejoras en las técnicas de

registro electrofisiológico permitieron estudiar el papel de los bloqueadores de los canales de sodio en el tratamiento de trastornos electrofisiológicos con manifestaciones tan diferentes como arritmias cardíacas, epilepsia y dolor neuropático.

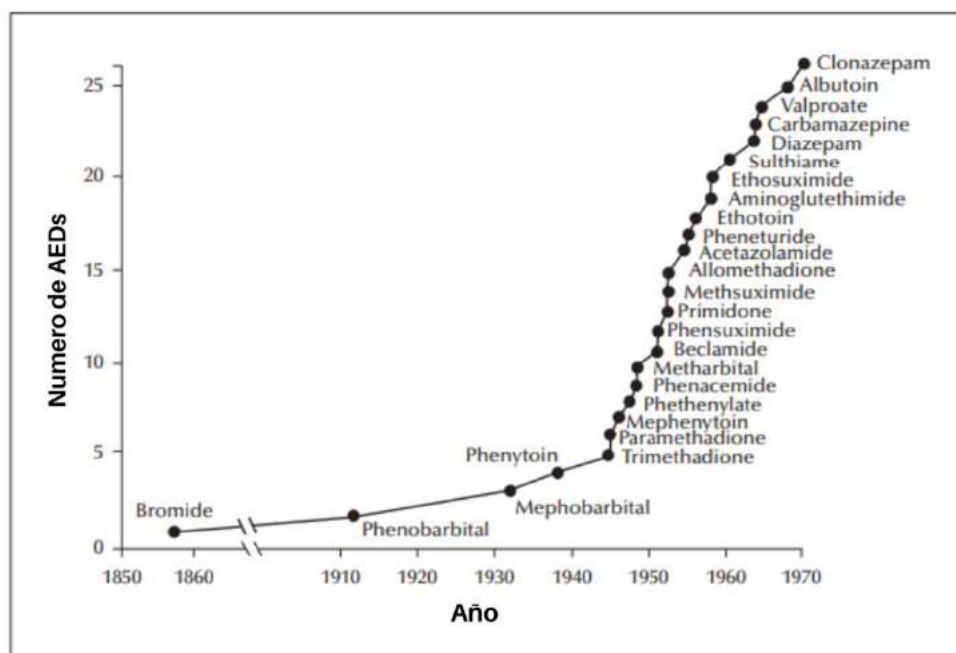
Los fenotipos de la enfermedad asociados con las canalopatías Nav han impulsado grandes esfuerzos para desarrollar nuevos compuestos farmacológicos potencialmente útiles. Específicamente, reducir la hiperexcitabilidad de Nav es de vital importancia para aliviar las condiciones que limitan la vida y, a veces, son letales. Un estudio realizado en 2016 mostró por primera vez que los canales de navegación se encontraban entre los objetivos de CBD (Patel, et al., 2016).

5.7.1 Antiepilépticos

Los canales de sodio activados por voltaje han sido el objetivo de muchos fármacos antiepilépticos. Una variedad de toxinas y moduladores farmacológicos ejercen sus efectos al unirse a diferentes estados biofísicos de VGSC. Ciertos estados de estos canales se estabilizan o desestabilizan dependiendo de los efectos de los agentes moduladores lo que resulta en alteraciones biofísicas del canal. La hipótesis del receptor modulado formula un vínculo entre los estados funcionales de VGSC y la actividad de las moléculas del fármaco. Esta hipótesis postula que los anticonvulsivos y compuestos relacionados, como los anestésicos locales, se unen preferentemente a los estados activado o inactivado del canal sobre el estado cerrado / desactivado (Ragsdale y Avoli; 1998).

Los fármacos antiepilépticos (FAEs) son la base del tratamiento inicial en pacientes que padecen epilepsia. Hasta 1993 solo se contaba con ocho FAEs principales (Abou-Khalil, 2019). Desde entonces la investigación ha avanzado rápidamente desarrollando más fármacos disponibles. Los fármacos producidos después del año 2000 se conocen como fármacos de tercera generación (Singh y Verma, 2019). Dichos fármacos pueden ofrecer nuevos mecanismos de acción

y una farmacocinética favorable, minimizando efectos adversos. Muchos de estos fármacos se han utilizado en dosis pediátricas.



Gráfica 1. Aumento del número de fármacos anti-epilépticos durante el periodo de 1857 (año de introducción del bromuro) a 1969. Todos los fármacos llegaron al mercado. Tabla tomada de Abou-Khalil, 2019

La administración de alimentos y medicamentos (FDA) de EE.UU. Ha aprobado 20 anticonvulsivos diferentes para el tratamiento de la epilepsia.

Aproximadamente la mitad de estos fármacos tienen un mecanismo de acción similar, inhibiendo VGSC mediante la estabilización de la inactivación rápida; la fosfenitoína, oxcarbazepina, primidona, zonisamida, ácido valproico y valproato semisódico comparten todo este modo de acción. Estos fármacos actúan mediante un mecanismo novedoso, mejorando selectivamente la inactivación lenta de las VGSC y modulando la actividad de la proteína-2 mediadora de respuesta al colapso (CRMP-2) (Errington, Coyne, Stöhr, Selve y Lees; 2006).

5.7.1.1 Cannabidiol (CBD)

La planta de cannabis, *Cannabis sativa*, contiene más de 120 componentes activos, que se denominan colectivamente fitocannabinoides (Morales, Hurst y

Reggio; 2017). Los primeros registros de uso medicinal del cannabis se remontan a los registros sumerios alrededor del 1800 a.C., que mencionan el uso de esta planta contra una variedad de enfermedades, incluidas las convulsiones. Hay registros más recientes de consumo de cannabis contra la epilepsia en la literatura islámica (ElSohly; 2007, Russo, et al; 2008). En la década de 1960 se determinó el mecanismo por el cual el Δ^9 tetrahidrocannabinol (THC), el fitocannabinoide psicotrópico primario, imparte psicoactividad. Se identificaron dos receptores de cannabinoides, CB1 y CB2, para unirse específicamente al THC. El Cannabidiol (CBD) es otro fitocannabinoide clave que comparte una estructura similar y muchos de los efectos fisiológicos del THC sin su psicoactividad. Esta gran diferencia se debe al hecho de que el CBD tiene poca o ninguna afinidad por los receptores CB con los que interactúa el THC (Devane, Dysarz, Johnson, Melvin y Howlett; 1988). De hecho, se sugiere que el CBD es un modulador alostérico negativo de los receptores CB (Tham, Yilmaz, Alaverdashvili, Kelly y Denovan; 2019). La falta de actividad del CBD en los receptores CB y su aparente eficacia (tanto en ensayos clínicos como anecdóticos) en varios trastornos han dado lugar a que se propongan muchas proteínas como objetivos del CBD, incluidos los canales de sodio activados por voltaje (Nav) (De Petrocelis; 2011)

El Cannabidiol (CBD), es el compuesto no psicoactivo aislado de las plantas de cannabis, fue aprobado recientemente por la Agencia Europea de Medicamentos y la Administración Federal de Medicamentos para su uso en niños para el tratamiento del síndrome de Dravet y el síndrome de Lenox-Gastaut. (Sarker y Nahar; 2020). Ambas enfermedades son epilepsias raras de inicio temprano asociadas con Navs, y los pacientes de Dravet a menudo tienen mutaciones en el gen SCN1A de hNav1.1 (Marini, et. al; 2011). A pesar de una cantidad significativa de evidencia que informa sobre la efectividad del CBD para el tratamiento de afecciones epilépticas (Cross, Marsh, Miller, Nabbout, Scheffer y Wright; 2017), la base molecular de sus interacciones diana con canales iónicos y receptores aún no está clara (Watkins, 2019).

5.7.1.2 El CBD es un inhibidor de las corrientes de sodio dependientes del voltaje.

Los estudios funcionales han sugerido que el CBD bloquea los poros y estabiliza los estados inactivados de los canales de sodio. Inhibe las actividades de los canales de las isoformas Nav1.1-Nav1.7 humanas, con IC₅₀ que oscilan entre 1,5 y 3,8 mM, lo que sugiere que la inhibición se produce a concentraciones fisiológicamente relevantes (Patel, et al; 2016, Ghovanloo et al; 2018). Esta preferencia por el estado inactivado es una característica de los bloqueadores de poros clásicos (Kuo y Bean; 1994).

Un atributo importante de la inhibición por CBD es la habilidad de prevenir la apertura de canales. Se encontró que las exposiciones a concentraciones de CBD de aproximadamente 3 μM (en Nav 1.1, ligeramente por encima de IC₅₀), al alcanzar el equilibrio, bloquea aproximadamente el 90% de la conductancia macroscópica total de Nav. (Ghovanloo y Ruben; 2021)

En el año 2018 se realizó un estudio electrofisiológico en células HECK-293 y neuronas iPSC (Ghovanloo, Shuart, Mezeyova, Dean, Ruben y Goodchild; 2018) para caracterizar los efectos del CBD en los canales de sodio. Sus resultados mostraron que el CBD inhibe las corrientes de hNav1.1-1.7, con una CI₅₀ de 1.9-3.8 μM, lo que sugiere que esta inhibición podría ocurrir a concentraciones terapéuticamente relevantes. El CBD exhibió un bloqueo en estado de reposo, se volvió más potente a potenciales despolarizados y también ralentizo la recuperación de la inactivación, lo que respalda la idea de que la unión del CBD estabiliza preferentemente los estados inactivados del canal Nav.

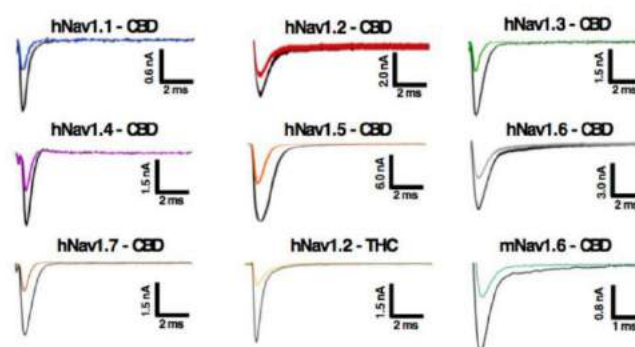


Figura 15. El uso de IC₅₀ de hNav en comparación con CBD. Imagen modificada de Ghovanloo, Shuart, Mezeyova, Dean, Ruben y Goodchild, 2018.

En 2018 Sun y Dolmetsch establecieron un modelo celular humano del síndrome de Dravet mediante la diferenciación de las células madre pluripotentes inducidas (iPSC) en neuronas telencefálicas inhibitoras y excitadoras. Donde fue utilizado para investigar los mecanismos antiepilépticos del CBD a nivel celular. Donde a través de un hallazgo a partir de datos farmacocinéticos clínicos en humanos identificaron 50 nM como una concentración terapéuticamente relevante para las pruebas. Estos 50 nM de CBD aumentaron la excitabilidad de las neuronas inhibitoras, pero disminuyeron la excitabilidad de las neuronas inhibitoras excitadoras.

Sait, Sula, Ghovanloo y Wallace en el 2020 realizaron un estudio para examinar el sitio de interacciones del compuesto de CBD no psicoactivo de origen natural aislado de las plantas de cannabis, sobre el canal de sodio activado por voltaje de NavMs (Canal de Sodio procarionta de *Magnetococcus marinus*) el cual se une y es inhibido por los bloqueadores de sodio eucariotas de manera similar al canal Nav1.1 humano a pesar de millones de años de evolución entre los dos tipos de canales (Bagneris, DeCaen, Naylor, Pryde y Wallace, 2014). Los canales NavMs son tetrámeros y cada monómero consta de seis hélices transmembrana (TM) (4 de las cuales forman cada uno de los subdominios del sensor de voltaje y 2 de los cuales forman los subdominios de los poros), mientras que todas las isoformas del canal hNav son monómeros de cuatro similares pero no dominios idénticos (cada uno de los cuales también consta de 6 hélices transmembrana que se componen de subdominios de sensor de voltaje de 4 hélices y subdominios de poros de 2 hélices) más regiones de bucle entre dominios (que difieren considerablemente entre hNavs, pero no están involucradas en el CBD-sitios de unión). En el presente estudio demostraron que el CBD inhibe las NavMs de forma menos potente y con una pendiente más superficial que los otros canales Nav previamente estudiados. Y para obtener más información funcional sobre las interacciones moleculares se midió el bloqueo de CBD utilizando el canal mutante T2007A.

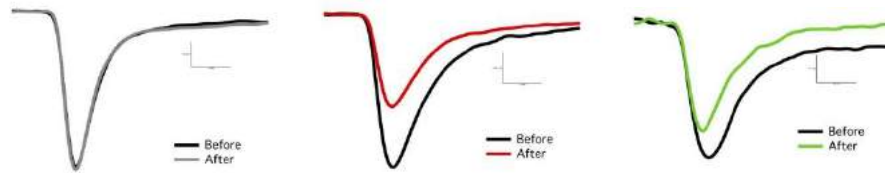


Figura 16. (a) Control de NavMs wild-type sin CBD añadido, (b) NavMs wild-type (negro) antes y después (rojo) de perfusión de CBD 10 μM (el efecto del compuesto de medio después de 6 minutos de lavado / incubación, 1 Hz) y (c) Igual que en b pero usando la mutante T207A (en verde). Imagen modificada de Sait, Sula, Ghovanloo, Hollingworth, Ruben y Wallace, 2020.

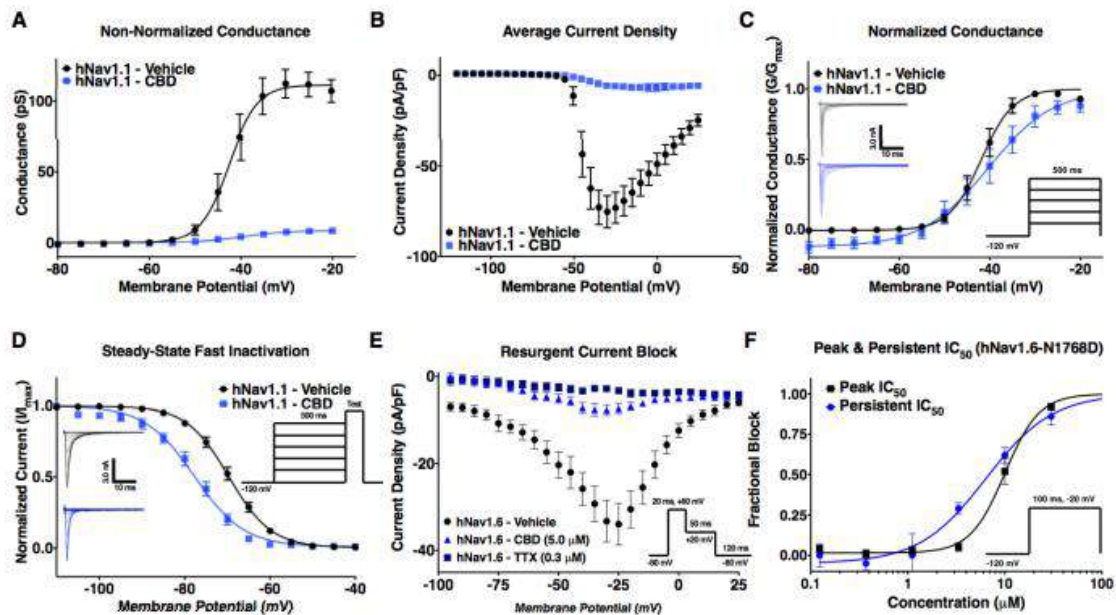


Figura 17. Efectos del CBD sobre la activación, la inactivación rápida en estado estable, el bloqueo de la corriente resurgente y las corrientes persistentes. Imagen modificada de Ghovanloo y Ruben, 2021.

Para determinar si el CBD actúa con dependendencia del estado del canal, Ghovanloo y Ruben (2021) midieron la inhibición de -100, -90, -80 y -70 mV en Nav1.1 donde encontraron que la inhibición del estado de reposo del CBD tiene una CI_{50} de 10 μM , que es aproximadamente menos potente que el estado inactivado. También descubrieron que el CBD ralentiza la recuperación de Nav de estados inactivados tanto rápidos como lentos al aumentar la fracción lenta de recuperación de las constantes de tiempo de inactivación. De acuerdo con sus propiedades dependientes del estado, el CBD también es un inhibidor de Nav dependiente del uso, que podría ser una propiedad ventajosa contra los trastornos de hiperexcitabilidad.

6. Conclusiones

Aunque sigue presente un desarrollo de nuevos fármacos de tercera generación, existe un gran porcentaje de los pacientes afectados por epilepsia continúan siendo refractarios a FAEs. Los nuevos fármacos antiepilépticos que son bloqueadores de canales de sodio como eslicarbazepina y lacosamida tienen un perfil de efectos adversos más favorable que los bloqueadores de sodio de primera o segunda generación. Estos pueden ser utilizados en pacientes con epilepsia de difícil control.

El CBD es muy útil en el tratamiento de pacientes con síndrome de Dravet o SLG. Estos avances, mejorarán en gran medida la vida de los pacientes con epilepsias genéticas y otras formas más extendidas de esta enfermedad de gran importancia. Los esfuerzos en curso están dirigidos a desarrollar agentes verdaderamente novedosos que se dirijan a las causas y mecanismos subyacentes de la epilepsia más que a sus síntomas.

Aunque no se ha establecido el mecanismo antiepiléptico preciso del CBD y la potencia farmacológica correspondiente permanece sin definir, el avance en los estudios del CBD proporciona información novedosa sobre un posible mecanismo para las interacciones de dicho fármaco con los canales de sodio.

7. Perspectivas

CBD como tratamiento para pacientes con Epilepsia y COVID-19

Aunque las personas con epilepsia no son más propensas a infectarse por el coronavirus ni contraer manifestaciones severas. Sin embargo, el manejo de la COVID-19 con este grupo de personas pueden ser más complicado que en otras personas. Las interacciones fármaco-fármaco pueden plantear retos importantes y los problemas cardíacos, hepáticos o renales, que pueden ocurrir en pacientes con COVID-19 grave, puede requerir un ajuste a los fármacos antiepilépticos.

Las interacciones más importantes desde el punto de vista clínico son las de los FAE con otros fármacos debido a la inducción o inhibición de las enzimas hepáticas que metabolizan los fármacos (Asadi-Pooya, Attar, Moghadami y

Karimzadeh; 2020). Desafortunadamente, muchos FAE son sustratos, inductores o inhibidores de las enzimas hepáticas; por tanto, las interacciones farmacológicas son frecuentes en personas con epilepsia (Patsalos; 2013). Durante la pandemia de COVID-19, los pacientes tratados con medicamentos antiepilépticos, así como con medicamentos antivirales, tienen riesgo de interacciones medicamentosas, especialmente cuando los medicamentos son metabolizados por las mismas enzimas del citocromo P-450.

El estudio del CBD podría llevar a un avance en el tratamiento de dichos pacientes que sufren epilepsia y tener un menor riesgo de interacciones con fármacos indicados para el COVID-19.

8. Anexo



BENEMERITA UNIVERSIDAD AUTONOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE MEDICINA
INSTITUTO DE FISILOGIA

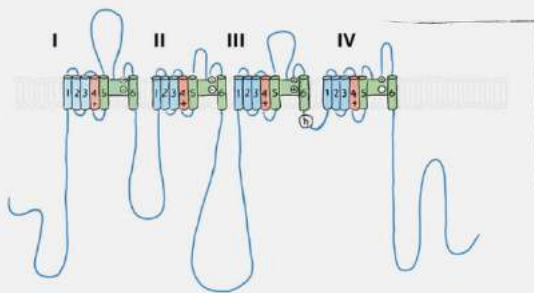
LICENCIATURA EN BIOMEDICINA
LABORATORIO DE BIOFISICA CARDIACA



CANNABIDIOL COMO
FARMACO ANTIEPILEPTICO

SOBRE EL CANAL DE
SODIO NAV 1.1

Los canales de sodio dependientes de voltaje (VGSC) están presentes en muchos tipos de tejidos dentro del cuerpo humano. Estos son responsables de la generación y propagación de potenciales de acción. Las diversas enfermedades asociadas con las canalopatías Nav han impulsado grandes esfuerzos para desarrollar nuevos compuestos farmacológicos potencialmente útiles. Patel, et al, 2016



EPILEPSIA



Es clasificada como una canalopatía debido a la presencia de mutaciones en los genes codificantes a los canales iónicos, principalmente en el gen SCN1A de la isoforma Nav1.1, y estas son responsables de los síndromes de epilepsia.

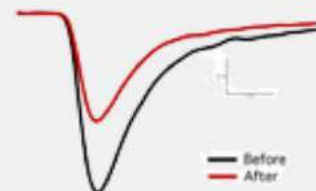
Los datos de análisis sugieren que las mutaciones de la epilepsia causan una amplia gama de efectos sobre la función de Nav1.1, al menos algunos son la hiperexcitabilidad neuronal. Lossin, et al, 2002.

¿QUE ES EL
CANNABIDIOL (CBD)?

Es un fitocannabinoide psicotrópico primario y comparte efectos fisiológicos del THC sin su psicoactividad.

Estudios han sugerido que el CBD bloquea los poros y estabiliza los estados inactivados de los canales de sodio.

Un atributo importante de la inhibición por CBD es la habilidad de prevenir la apertura de canales. Ghovanloo y Ruben, 2021



(negro) antes y después (rojo)
de perfusión de CBD 10 μ M
Sait, et al 2020

CONCLUSIONES

A pesar de una cantidad significativa de evidencia sobre la efectividad del CBD para el tratamiento de afecciones epilépticas, la base molecular de sus interacciones diana con canales iónicos y receptores aún no está clara



El CBD es muy útil en el tratamiento de pacientes con síndrome de Dravet o SLG. Estos avances, mejoraran en gran medida la vida de los pacientes con epilepsias genéticas

Bibliografía

- Abou-Khalil, B. W. (2019). Update on antiepileptic drugs 2019. *CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology*, 25(2), 508-536.
- Alberts, B., Johnson, A. D., Lewis, J., Morgan, D., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2014). *Molecular Biology of the Cell*. En *Internal Organization of the Cell* (6th ed. ed., pp. 565-583). W. W. Norton & Company.
- Armstrong, C. M., & Bezanilla, F. (1977). Inactivation of the sodium channel. II. Gating current experiments. *Journal of General Physiology*, 70(5), 567-590.
- Arrazola, A. (1994). Biología de la membrana celular. *Nefrología*, 14(4), 418-426
- Asadi-Pooya, A. A., Attar, A., Moghadami, M., & Karimzadeh, I. (2020). Management of COVID-19 in people with epilepsy: drug considerations. *Neurological Sciences*, 1-7.
- Bagnéris, C., DeCaen, P. G., Naylor, C. E., Pryde, D. C., Nobeli, I., Clapham, D. E., & Wallace, B. A. (2014). Prokaryotic NavMs channel as a structural and functional model for eukaryotic sodium channel antagonism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(23), 8428-8433.
- Barela, A. J., Waddy, S. P., Lickfett, J. G., Hunter, J., Anido, A., Helmers, S. L., ... & Escayg, A. (2006). An epilepsy mutation in the sodium channel SCN1A that decreases channel excitability. *Journal of Neuroscience*, 26(10), 2714-2723.
- Bender, K. J., & Trussell, L. O. (2012). The physiology of the axon initial segment. *Annual review of neuroscience*, 35, 249-265.
- Beneski, D. A., & Catterall, W. A. (1980). Covalent labeling of protein components of the sodium channel with a photoactivable derivative of scorpion toxin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 77(1), 639-643.
- Bezanilla, F. (2007). Voltage-gated ion channels. *Biological Membrane Ion Channels*, 81-118.

Bialer, M. (2006). New antiepileptic drugs that are second generation to existing antiepileptic drugs. *Expert opinion on investigational drugs*, 15(6), 637-647.

Cantrell, A. R., & Catterall, W. A. (2001). Neuromodulation of Na⁺ channels: An unexpected form of cellular plasticity. *Nature Reviews Neuroscience*, 2(6), 397-407.

Catterall, W. A. (2014). Sodium channels, inherited epilepsy, and antiepileptic drugs. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 54, 317-338.

Catterall, W. A., Goldin, A. L., & Waxman, S. G. (2005). International Union of Pharmacology. XLVII. Nomenclature and structure-function relationships of voltage-gated sodium channels. *Pharmacological reviews*, 57(4), 397-409.

Catterall, W. A., Kalume, F., & Oakley, J. C. (2010). NaV1. 1 channels and epilepsy. *The Journal of physiology*, 588(11), 1849-1859.

Cell Membranes | Learn Science at Scitable. (s. f.). Scitable. Recuperado 19 de agosto de 2020, de https://www.nature.com/scitable/topicpage/cell-membranes-14052567/?error=cookies_not_supported&code=3efd2ee1-b4ed-412e-861d-7df302f97f8d

Cheah, C. S., Frank, H. Y., Westenbroek, R. E., Kalume, F. K., Oakley, J. C., Potter, G. B., ... & Catterall, W. A. (2012). Specific deletion of NaV1. 1 sodium channels in inhibitory interneurons causes seizures and premature death in a mouse model of Dravet syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(36), 14646-14651.

Claes, L., Del-Favero, J., Ceulemans, B., Lagae, L., Van Broeckhoven, C., & De Jonghe, P. (2001). De novo mutations in the sodium-channel gene SCN1A cause severe myoclonic epilepsy of infancy. *The American Journal of Human Genetics*, 68(6), 1327-1332.

Clare, J. J., Tate, S. N., Nobbs, M., & Romanos, M. A. (2000). Voltage-gated sodium channels as therapeutic targets. *Drug discovery today*, 5(11), 506-520.

Cooper, O. B. G. (2018). Structure of the Plasma Membrane. En *The Cell: A Molecular Approach* (8th ed. ed., p. 515). Sinauer Associates Is an Imprint of Oxford University Press.

Costanzo, L. S. (2018). *Fisiologia*. Elsevier.

Cross, J. H., Devinsky, O., Marsh, E., Miller, I., Nabbout, R., Scheffer, I. E., ... & Wright, S. (2017). Cannabidiol (CBD) reduces convulsive seizure frequency in Dravet syndrome: results of a multi-center, randomized, controlled trial (GWPCARE1)(CT. 001).

de Lera Ruiz, M., & Kraus, R. L. (2015). Voltage-gated sodium channels: structure, function, pharmacology, and clinical indications. *Journal of medicinal chemistry*, 58(18), 7093-7118.

De Petrocellis, L., Ligresti, A., Moriello, A. S., Allarà, M., Bisogno, T., Petrosino, S., ... & Di Marzo, V. (2011). Effects of cannabinoids and cannabinoid-enriched Cannabis extracts on TRP channels and endocannabinoid metabolic enzymes. *British journal of pharmacology*, 163(7), 1479-1494.

Devane, W. A., Dysarz, F. 3., Johnson, M. R., Melvin, L. S., & Howlett, A. C. (1988). Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Molecular pharmacology*, 34(5), 605-613.

Egri, C., Vilin, Y. Y., & Ruben, P. C. (2012). A thermoprotective role of the sodium channel $\beta 1$ subunit is lost with the $\beta 1$ (C121W) mutation. *Epilepsia*, 53(3), 494-505.

EISohly, M. A. (Ed.). (2007). *Marijuana and the Cannabinoids*. Springer Science & Business Media.

Errington, A. C., Coyne, L., Stöhr, T., Selve, N., & Lees, G. (2006). Seeking a mechanism of action for the novel anticonvulsant lacosamide. *Neuropharmacology*, 50(8), 1016-1029.

Escayg, A., Heils, A., MacDonald, B. T., Haug, K., Sander, T., & Meisler, M. H. (2001). A novel SCN1A mutation associated with generalized epilepsy with febrile seizures plus—and prevalence of variants in patients with epilepsy. *The American Journal of Human Genetics*, 68(4), 866-873.

Escayg, A., MacDonald, B. T., Meisler, M. H., Baulac, S., Huberfeld, G., An-Gourfinkel, I., ... & Malafosse, A. (2000). Mutations of SCN1A, encoding a neuronal sodium channel, in two families with GEFS+ 2. *Nature genetics*, 24(4), 343-345.

Fisher, R. S., Boas, W. V. E., Blume, W., Elger, C., Genton, P., Lee, P., & Engel Jr, J. (2005). Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). *Epilepsia*, 46(4), 470-472.

Frank, H. Y., Mantegazza, M., Westenbroek, R. E., Robbins, C. A., Kalume, F., Burton, K. A., ... & Catterall, W. A. (2006). Reduced sodium current in GABAergic interneurons in a mouse model of severe myoclonic epilepsy in infancy. *Nature neuroscience*, 9(9), 1142-1149.

Ghovanloo, M. R., & Ruben, P. C. (2021). Cannabidiol and Sodium Channel Pharmacology: General Overview, Mechanism, and Clinical Implications. *The Neuroscientist*, 10738584211017009.

Ghovanloo, M. R., Shuart, N. G., Mezeyova, J., Dean, R. A., Ruben, P. C., & Goodchild, S. J. (2018). Inhibitory effects of cannabidiol on voltage-dependent sodium currents. *Journal of Biological Chemistry*, 293(43), 16546-16558.

Goldin, A. L. (1999). Diversity of mammalian voltage-gated sodium channels. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 868(1), 38-50.

Hall, J. E. (2016). Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica. Elsevier Health Sciences.

Halliwel, J. V., Plant, T. D., Robbins, J., & Standen, N. B. (1994). Voltage clamp techniques. In *Microelectrode Techniques. The Plymouth Workshop Handbook* (pp. 17-35). The Company of Biologists, Ltd. Cambridge.

Han, S., Frank, H. Y., Schwartz, M. D., Linton, J. D., Bosma, M. M., Hurley, J. B., ... & Horacio, O. (2012). NaV1. 1 channels are critical for intercellular communication in the suprachiasmatic nucleus and for normal circadian rhythms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(6), E368-E377.

Hille, B. (2001). Ionic channels of excitable membranes, Sinauer Assoc. Inc., Sunderland, MA.

Hille, B. (2001). Ionic channels of excitable membranes, Sinauer Assoc. Inc., Sunderland, MA.

Hodgkin, A. L., & Huxley, A. F. (1945). Resting and action potentials in single nerve fibres. *The Journal of physiology*, 104(2), 176-195. (artículo)

Hodgkin, A. L., & Huxley, A. F. (1952). Currents carried by sodium and potassium ions through the membrane of the giant axon of Loligo. *The Journal of physiology*, 116(4), 449-472. (artículo)

Hodgkin, A. L., & Keynes, R. D. (1955). Active transport of cations in giant axons from Sepia and Loligo. *The Journal of physiology*, 128(1), 28-60.

Hu, W., Tian, C., Li, T., Yang, M., Hou, H., & Shu, Y. (2009). Distinct contributions of Na^v 1.6 and Na^v 1.2 in action potential initiation and backpropagation. *Nature neuroscience*, 12(8), 996-1002.

Karp, G. (2014). BIOLOGIA CELULAR Y MOLECULAR (7o edición ed.). McGraw-Hill Education.

Köhling, R. (2002). Voltage-gated sodium channels in epilepsy. *Epilepsia*, 43(11), 1278-1295.

Kwong, K., & Carr, M. J. (2015). Voltage-gated sodium channels. *Current Opinion in Pharmacology*, 22, 131-139.

<https://doi.org/10.1016/j.coph.2015.04.007>

Lodish, H., & Zipursky, S. L. (2001). Molecular cell biology. *Biochem Mol Biol Educ*, 29, 126-133.

Lossin, C., Wang, D. W., Rhodes, T. H., Vanoye, C. G., & George Jr, A. L. (2002). Molecular basis of an inherited epilepsy. *Neuron*, 34(6), 877-884.

Mantegazza, M., Curia, G., Biagini, G., Ragsdale, D. S., & Avoli, M. (2010). Voltage-gated sodium channels as therapeutic targets in epilepsy and other neurological disorders. *The Lancet Neurology*, 9(4), 413-424. (REVIEW)

Marini, C., Scheffer, I. E., Nabbout, R., Suls, A., De Jonghe, P., Zara, F., & Guerrini, R. (2011). The genetics of Dravet syndrome. *Epilepsia*, 52, 24-29.

Martin, L. J., Chao, R., & Corry, B. (2014). Molecular dynamics simulation of the partitioning of benzocaine and phenytoin into a lipid bilayer. *Biophysical chemistry*, 185, 98-107.

Martínez Rosas, M. (2004). Los canales iónicos: la biología y patología. *Archivos De Cardiología De México*, 74(2), 205-210.

Meisler, M. H., O'brien, J. E., & Sharkey, L. M. (2010). Sodium channel gene family: epilepsy mutations, gene interactions and modifier effects. *The Journal of physiology*, 588(11), 1841-1848.

Morales, P., Hurst, D. P., & Reggio, P. H. (2017). Molecular targets of the phytocannabinoids: a complex picture. *Phytocannabinoids*, 103-131.

Nardi, A., Damann, N., Hertrampf, T., & Kless, A. (2012). Advances in Targeting Voltage-Gated Sodium Channels with Small Molecules. *ChemMedChem*, 7(10), 1712-1740. (Artículo)

Neher, E., & Sakmann, B. (1992). The patch clamp technique. *Scientific American*, 266(3), 44-51.

Nusser, Z. (2012). Differential subcellular distribution of ion channels and the diversity of neuronal function. *Current opinion in neurobiology*, 22(3), 366-371.

OpenStax College. (2013, 16 octubre). Transport Across Membranes | Boundless Anatomy and Physiology. Boundless.com. <https://courses.lumenlearning.com/boundless-ap/chapter/transport-across-membranes/>

Paiz-Candia, B., Islas, A. A., Sánchez-Solano, A., Mancilla-Simbro, C., Scior, T., Millan-PerezPeña, L., & Salinas-Stefanon, E. M. (2017). Mefloquine inhibits voltage dependent Nav1.4 channel by overlapping the local anaesthetic binding site. *European journal of pharmacology*, 796, 215-223.

- Patel, R. R., Barbosa, C., Brustovetsky, T., Brustovetsky, N., & Cummins, T. R. (2016). Aberrant epilepsy-associated mutant Nav1.6 sodium channel activity can be targeted with cannabidiol. *Brain*, 139(8), 2164-2181.
- Patsalos, P. N. (2013). Drug interactions with the newer antiepileptic drugs (AEDs)—part 1: pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions between AEDs. *Clinical pharmacokinetics*, 52(11), 927-966.
- Payandeh, J., El-Din, T. M. G., Scheuer, T., Zheng, N., & Catterall, W. A. (2012). Crystal structure of a voltage-gated sodium channel in two potentially inactivated states. *Nature*, 486(7401), 135-139.
- Payandeh, J., Scheuer, T., Zheng, N., & Catterall, W. A. (2011). The crystal structure of a voltage-gated sodium channel. *Nature*, 475(7356), 353-358.
- Payandeh, J., Scheuer, T., Zheng, N., & Catterall, W. A. (2011). The crystal structure of a voltage-gated sodium channel. *Nature*, 475(7356), 353-358.
- Ragsdale, D. S. (2008). How do mutant Nav1.1 sodium channels cause epilepsy?. *Brain research reviews*, 58(1), 149-159.
- Ragsdale, D. S., & Avoli, M. (1998). Sodium channels as molecular targets for antiepileptic drugs. *Brain Research Reviews*, 26(1), 16-28.
- Ragsdale, D. S., McPhee, J. C., Scheuer, T., & Catterall, W. A. (1994). Molecular determinants of state-dependent block of Na⁺ channels by local anesthetics. *Science*, 265(5179), 1724-1728.
- Raju, S. G., Barber, A. F., LeBard, D. N., Klein, M. L., & Carnevale, V. (2013). Exploring volatile general anesthetic binding to a closed membrane-bound bacterial voltage-gated sodium channel via computation. *PLoS computational biology*, 9(6), e1003090.
- Rogawsky, M. A. (1990). Antiepileptic drugs: pharmacological mechanisms and clinical efficacy with consideration of promising developmental stage compounds. *Pharmacol. Rev.*, 42, 223-286.
- Ruben, P. C. (2016). Voltage Gated Sodium Channels (Softcover Reprint of the Original 1st 2014 ed. ed.). Springer.

- Russo, E. B., Jiang, H. E., Li, X., Sutton, A., Carboni, A., Del Bianco, F., ... & Li, C. S. (2008). Phytochemical and genetic analyses of ancient cannabis from Central Asia. *Journal of experimental botany*, 59(15), 4171-4182.
- Sait, L. G., Sula, A., Ghovanloo, M. R., Hollingworth, D., Ruben, P. C., & Wallace, B. A. (2020). Cannabidiol interactions with voltage-gated sodium channels. *Elife*, 9, e58593.
- Salinas, E. M., Islas, A. A., Scior, T. F., Martinez-Morales, E., & Millan-PerezPeña, L. (2012). An In-Silico Approach to Primaquine Binding to Trp756 in the External Vestibule of Sodium Channel Nav 1.4. *Biophysical Journal*, 102(3), 327a-328a.
- Sarker, S. D., & Nahar, L. (2020). Cannabidiol (CBD)—An update. *Trends in Phytochemical Research*, 4(1), 1-2.
- Scheffer, I. E., French, J., Hirsch, E., Jain, S., Mathern, G. W., Moshé, S. L., ... & Zuberi, S. M. (2016). Classification of the epilepsies: new concepts for discussion and debate—special report of the ILAE Classification Task Force of the Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia open*, 1(1-2), 37-44.
- Silverthorn, D. U. (2015). *Human Physiology: An Integrated Approach* (7th Revised ed. ed.). Pearson.
- Singer, S. J., & Nicolson, G. L. (1972). The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science*, 175(4023), 720-731.
- Singh, K. P., & Verma, N. (2019). Teratogenic potential of third-generation antiepileptic drugs: Current status and research needs. *Pharmacological Reports*, 71(3), 491-502.
- Spampanato, J., Escayg, A., Meisler, M. H., & Goldin, A. L. (2001). Functional effects of two voltage-gated sodium channel mutations that cause generalized epilepsy with febrile seizures plus type 2. *Journal of neuroscience*, 21(19), 7481-7490.

Stemkowski, P. L., & Smith, P. A. (2012). Sensory neurons, ion channels, inflammation and the onset of neuropathic pain. *Canadian journal of neurological sciences*, 39(4), 416-435.

Stemkowski, P. L., & Smith, P. A. (2012). Sensory neurons, ion channels, inflammation and the onset of neuropathic pain. *Canadian journal of neurological sciences*, 39(4), 416-435.

Sun, Y., & Dolmetsch, R. E. (2018, January). Investigating the therapeutic mechanism of cannabidiol in a human induced pluripotent stem cell (iPSC)-based model of Dravet syndrome. In Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology (Vol. 83, pp. 185-191). Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Tham, M., Yilmaz, O., Alaverdashvili, M., Kelly, M. E., Denovan-Wright, E. M., & Laprairie, R. B. (2019). Allosteric and orthosteric pharmacology of cannabidiol and cannabidiol-dimethylheptyl at the type 1 and type 2 cannabinoid receptors. *British journal of pharmacology*, 176(10), 1455-1469.

Trimmer, J. S., & Rhodes, K. J. (2004). Localization of voltage-gated ion channels in mammalian brain. *Annu. Rev. Physiol.*, 66, 477-519.

Villa-Diaz, F., Lopez-Nunez, S., Ruiz-Castelan, J. E., Salinas-Stefanon, E. M., & Scior, T. (2020). Chemometric Models of Differential Amino Acids at the Nav α and Nav β Interface of Mammalian Sodium Channel Isoforms. *Molecules*, 25(15), 3551.

Wang, G. K., Quan, C., & Wang, S. Y. (1997). A common local anesthetic receptor for benzocaine and etidocaine in voltage-gated μ 1 Na⁺ channels. *Pflügers Archiv*, 435(2), 293-302.

Watkins, A. R. (2019). Cannabinoid interactions with ion channels and receptors. *Channels*, 13(1), 162-167.

Williams, E. V. (1984). A classification of antiarrhythmic actions reassessed after a decade of new drugs. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 24(4), 129-147.

