

Fecha de presentación del Informe: Día Mes Año **1. Datos generales del Proyecto**

Código del proyecto: 1782. Convocatoria Interna para la conformación del Banco de proyectos de Investigación 2-2015

Título del proyecto: **Valoración de los efectos celulares exofocales de la Metformina suministrada crónicamente en un modelo de isquemia cerebral focal transitorio en ratas**

Facultad o Instituto Académico: Salud

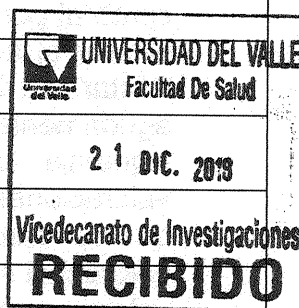
Departamento o Escuela: Ciencias Básicas

Grupo (s) de investigación: Centro de Estudios Cerebrales

Entidades: Universidad del Valle

Palabras claves: Metformina, isquemia cerebral, Neuroprotección, cambios exofocales, biomodelo

Investigadores ¹	Nombre	Tiempo asignado	Tiempo dedicado
Investigador Principal	Efraín Buriticá	4 hrs/semana	4 hrs/semana
Co-investigadores	Mauricio Palacios	4 hrs/semana	4 hrs/semana
	Isaac Arbeláez	20 hrs/semana	20 hrs/semana
	Ana María Villota	3 hrs/semana	3 hrs/semana
	Ingrid Johana Otero	3 hrs/semana	3 hrs/semana
	Beatriz Lucumí	3 hrs/semana	3 hrs/semana
Otros participantes	Ricardo Malaver	2 hrs/semana	2 hrs/semana

**2. Resumen ejecutivo:**

Problema: Los eventos isquémicos cerebrovasculares tienen una alta morbilidad y mortalidad en los humanos. Estudios recientes sugieren un papel neuroprotector de la Metformina en modelos de isquemia en ratas que han recibido tratamiento crónico con esta biguanida al observar una disminución del riesgo de transformación del ictus isquémico

¹ Todas las personas relacionadas en el informe y que participen en el proyecto deben haber suscrito el acta de propiedad intelectual de acuerdo con los formatos establecidos.

en hemorrágico, prevención de la apertura de poro de transición de permeabilidad mitocondrial y el colapso del gradiente mitocondrial secundario en neuronas intactas entre otros efectos. Si bien, muy poco se puede hacer por rescatar las células del foco isquémico y por algunas de la zona de penumbra, la pregunta es si la Metformina tiene un efecto neuroprotector para las zonas exofocales, las cuales están expuestas a los mecanismos de lesión secundaria que afectan a sus regiones aferentes y blancos eferentes en el foco y la penumbra isquémicos. *Objetivo:* Evaluar el efecto neuroprotector de la administración crónica de Metformina en diferentes poblaciones neuronales de la corteza cerebral contralateral en un modelo de isquemia cerebral focal transitoria con reperusión en ratas. *Metodología:* Se utilizó el modelo de isquemia cerebral por oclusión de la arteria cerebral media con reperusión a los 90 minutos para valorar el tejido nervioso exofocal tanto ipsilateral como contralateral en ratas macho Wistar. La Metformina se administró de 2 maneras: crónicamente antes del ictus y agudamente posterior al evento isquémico. Usamos como controles, animales con isquemia focal sin tratamiento y animales intactos. Se realizaron dos tipos de valoraciones: Una evaluación comportamental y una evaluación descriptiva histológica de los cambios en regiones exofocales del cerebro isquémico. Para la primera valoración se utilizó el Beam Walking Test antes y después de la isquemia cerebral para valorar cambios 24 y 72 horas post-isquemia de los grupos experimentales. A las 72 horas post-isquemia, las ratas se perfundieron y se comprobó el área infartada con la tinción de TTC, y se valoró la inmunomarcación de los anticuerpos Anti-NeuN, Anti-MAP2, Anti-Parvalbumin (PV), y Anti-GFAP, en las regiones exofocales: corteza cerebral y estriado ipsilateral y contralateral a la isquemia. *Resultados:* El uso crónico pre-isquémico de Metformina evitó un mayor tamaño del infarto al compararse con los otros grupos. Se encontró una reducción de neuronas viables en las regiones exofocales valoradas de los grupos experimentales, especialmente en el estriado; no obstante, se encontraron mayor cantidad de neuronas viables en el grupo que recibió Metformina dos semanas antes de la isquemia. En el lado contralateral exofocal se observaron aumentos de la expresión de interneuronas positivas para PV en el grupo isquemia+solución salina, sin cambios a ambos lados en el grupo que recibió Metformina dos semanas antes de la isquemia, sugiriendo una acción neuroprotectora en este subgrupo de interneuronas. No hubo mejoría en el pronóstico clínico con el uso de Metformina a las 72 horas post-isquemia. *Conclusiones:* El uso profiláctico de Metformina es neuroprotector al ser valorado en regiones exofocales. La expresión de PV es un buen indicador del efecto exofocal de la lesión y un buen indicador del efecto neuroprotector contra la hiperexcitabilidad del tejido exofocal tras el tratamiento con Metformina.

Problem: Cerebrovascular ischemic events have a high morbidity and mortality in humans. Recent studies suggest a neuroprotective role of Metformin in models of ischemia in rats that have received chronic treatment with this bi-guanide when observing a reduction in the risk of transformation of ischemic stroke in hemorrhagic,



prevention of mitochondrial permeability transition pore opening and the collapse of the secondary mitochondrial gradient in intact neurons among other effects. Although very little can be done to rescue the cells of the ischemic focus and for some cells of the penumbra area, the question is whether Metformin has a neuroprotective effect for the exofocal areas, which are exposed to the mechanisms of secondary injury that affect their afferents regions and efferent targets in the ischemic focus and penumbra. **Objective:** To evaluate the neuroprotective effect of the chronic administration of Metformin in different neuronal populations of the contralateral cerebral cortex in a model of transient focal cerebral ischemia with reperfusion in rats. **Methodology:** We used the cerebral ischemia model for occlusion of the middle cerebral artery with reperfusion at 90 minutes to evaluate the exofocal nervous tissue both ipsilateral and contralateral in male Wistar rats. Metformin was administered in 2 ways: chronically before the stroke and acutely after the ischemic event. We use as controls, animals with focal ischemia without treatment and intact animals. Two types of assessments were made: A behavioral evaluation and a descriptive histological evaluation of the changes in exofocal regions of the ischemic brain. For the first assessment, the Beam Walking Test was used before and after cerebral ischemia to assess changes 24 and 72 hours post-ischemia of the experimental groups. At 72 hours post-ischemia, the rats were perfused and the infarcted area was checked with TTC staining, and the immunostaining of the Anti-NeuN, Anti-MAP2, Anti-Parvalbumin, and Anti-GFAP antibodies was assessed in the exofocal regions: cerebral cortex and striatum ipsilateral and contralateral to ischemia. **Results:** The chronic pre-ischemic use of Metformin avoided a larger infarct size when compared with the other groups. A reduction of viable neurons was found in the exofocal regions evaluated in the experimental groups, especially in the striatum; however, more viable neurons were found in the group that received Metformin two weeks before the ischemia. On the contralateral exofocal side, increases in the PV-neurons were observed in the ischemia+saline group, without changes on both sides in the group that received Metformin two weeks before the ischemia, suggesting a neuroprotective action in this subgroup of interneurons. There was no improvement in the clinical prognosis with the use of Metformin at 72 hours post-ischemia. **Conclusions:** The prophylactic use of Metformin is neuroprotective when assessed in exofocal regions. The expression of PV is a good indicator of the exofocal effect of the lesion and a good indicator of the neuroprotective effect against hyperexcitability of exofocal tissue after treatment with Metformin.

3. Síntesis del proyecto:

OBJETIVOS

El objetivo general del estudio fue evaluar el posible efecto neuroprotector de la administración crónica de Metformina en diferentes poblaciones celulares de regiones

cerebrales exofocales en ratas con isquemia cerebral focal transitoria. Los objetivos específicos fueron:

1. Cuantificar el efecto de la Metformina administrada crónicamente previa a la isquemia sobre el tamaño de infarto.
2. Contrastar los cambios celulares inducidos por el tratamiento crónico con Metformina pre-isquemia y agudo post-isquemia en regiones cerebrales exofocales.
3. Evaluar el efecto protector de la Metformina sobre las neuronas piramidales y no-piramidales de la corteza cerebral y sobre neuronas del estriado, todas ubicadas exofocalmente a la lesión isquémica.
4. Evaluar y comparar la reactividad glial en zonas cerebrales exofocales, entre los diferentes grupos experimentales con tratamiento y sin tratamiento de Metformina.
5. Evaluar comportamentalmente el efecto del tratamiento con Metformina entre los diferentes grupos experimentales.

METODOLOGÍA

Hicimos un estudio experimental, con dos controles, simple ciego. Todos los procedimientos fueron aprobados por el Comité de Ética Animal de la Universidad del Valle. En todos los experimentos se usaron 17 ratas Wistar con peso estimado entre 220 a 350 gr, de 10 a 12 semanas de vida.

Se usó una dosis de Metformina de 200 mg/Kg/día durante 17 días antes de la isquemia y hasta por 72 horas después de ésta. Se inició su suministro por gavage (vía oral, directamente al estómago) una vez la rata alcanzaba un peso aproximado entre 230 a 250 gr., lo cual garantizaba que el peso el día de la isquemia no fuera superior a 350 gr. A los controles se les dio solución salina estéril al 0,9% con esta misma técnica, cantidad y tiempos (ver figura 1).

Se utilizó el modelo de isquemia cerebral de Kouzumi y modificado por Longa (1989), el cual consiste en la introducción de un monofilamento por la arteria carótida externa hasta el nacimiento de la arteria cerebral media con retiro de la misma a los 90 minutos (reperusión). Se utilizó Isoflurano como anestésico durante la inducción (5%) y el mantenimiento de la cirugía (1%), mezclado con oxígeno a 4 L/min. Como analgésico post-operatorio se usó una dosis de tramadol a 5 mg/kg/dosis cada 4 a 6 horas, aplicado intraperitoneal durante las primeras 8 horas de la isquemia. Pasadas 12 horas del inicio de la isquemia, las ratas toleraban la vía oral por lo que se pasaba a analgesia vía oral con tramadol 0,1% en gotas 100mg/mL (una a dos gotas cada 4 a 6 horas).

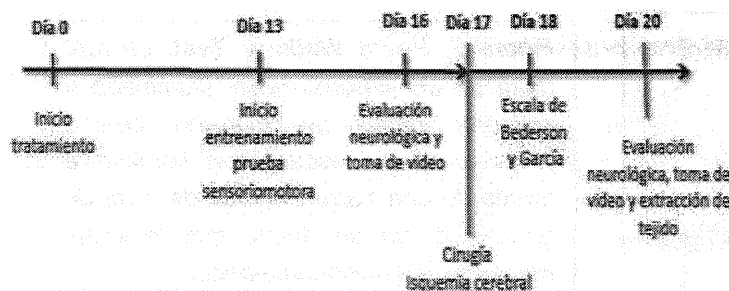


Figura 1. Línea del tiempo de los procedimientos realizados. El día cero comenzaba cuando las ratas llegaban a un peso entre 230 a 250 gr. Tres días antes de la isquemia cerebral se comenzaba el entrenamiento en el Beam-Walking Test. Los días 16, 18 (24 horas post-isquemia) y 20 se realizó la evaluación comportamental.

A las 72 horas post-isquemia se perfundieron los animales con solución salina al 0.9% (250 cc aprox.) y luego paraformaldehído buferado al 4% (250 cc aprox.). Después de extraer y lavar el cerebro con solución salina, se continuó la fijación por inmersión durante 48 horas adicionales con la misma mezcla de fijador, al cabo de los cuales se deshidrataron los tejidos por inmersión en sucrosa al 30% por 48 horas con recambio a las 24. Finalmente, se congelaron los tejidos con isopentano enfriado con hielo seco y se almacenaron a -70°C hasta ser cortados en criostato a $30\text{ }\mu\text{m}$ cada sección en orientación coronal.

Se midió el tamaño del infarto con la marcación de 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC). Se sumergieron cortes en TTC al 0,5% en PBS al 0,2 molar a 37°C por 15 min. Posteriormente, los cortes se montaron en papel milimetrado y se obtuvieron fotos digitales para el análisis del tamaño de la lesión. Con esta técnica las áreas infartadas no se marcan y permanecen pálidas lo que permitió una fácil demarcación de esta área. Esta marcación se aplicó en cada grupo (24 horas) a una rata ($n=3$), y las 4 restantes se utilizaron para inmunohistoquímica. En total se realizaron 2 ratas Sham. Para la evaluación comportamental se emplearon 4 ratas por grupo ($n=12$); antes y después (24 y 72 horas) de la isquemia cerebral para valorar cambios de los grupos experimentales (ver figura 2).

Se evaluaron histológicamente 2 estructuras cerebrales: la corteza cerebral motora primaria y el estriado, ambas estructuras en sectores ipsilaterales como contralaterales a la lesión, pero todos exofocales. La Metformina se administró de 2 maneras: crónicamente antes del ictus y agudamente posterior al evento isquémico. Usamos como controles, animales con isquemia focal sin tratamiento y animales intactos (ver Figura 3). Se valoró en el tejido cortado a $30\text{ }\mu\text{m}$, la inmunomarcación de los anticuerpos Anti-NeuN (población neuronal total), Anti-MAP2 (población de neuronas piramidales corticales), Anti-Parvalbumin (PV: una subpoblación de interneuronas GABAérgicas corticales), y Anti-GFAP (población de astrocitos reactivos). En la corteza cerebral se valoraron las capas supragranulares (láminas II-III) y las capas infragranulares (láminas V-VI) en corteza del cíngulo ipsilateral y corteza motora contralateral a la lesión. En el estriado, se evaluaron las regiones ventromedial ipsilateral y dorsolateral contralateral (ver figura 4).

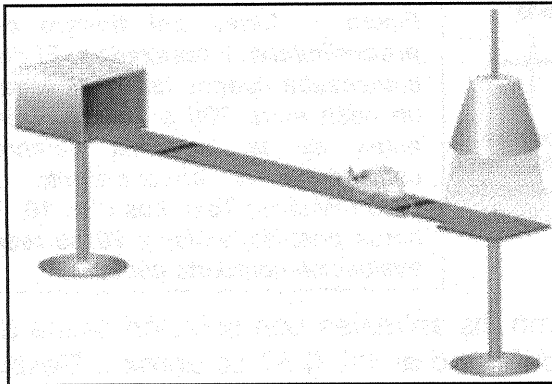


Figura 2. Beam Walking Test. La rata pasa de un extremo hostil (iluminado y caliente) hasta un extremo ameno (espacio-refugio oscuro con comida) a través de una barra delgada de 1 mt de largo y 1 cm de ancho que le exige mantener el equilibrio/balance.

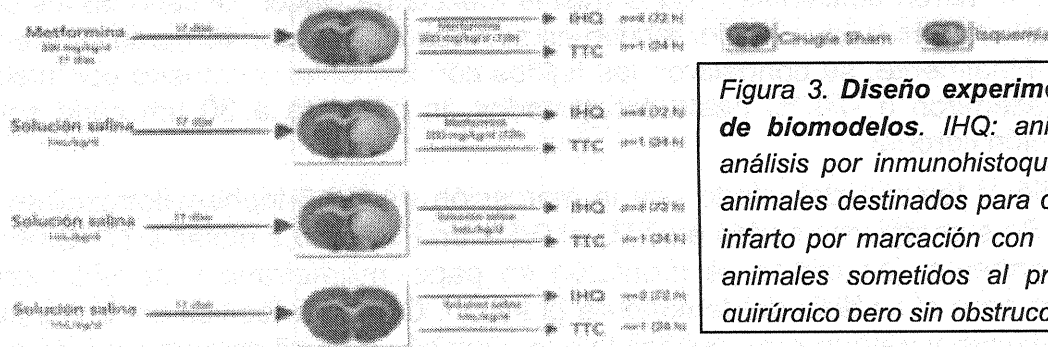


Figura 3. Diseño experimental y uso de biomodelos. IHQ: animales para análisis por inmunohistoquímica. TTC: animales destinados para cuantificar el infarto por marcación con TTC. Sham: animales sometidos al procedimiento quirúrgico pero sin obstrucción arterial.

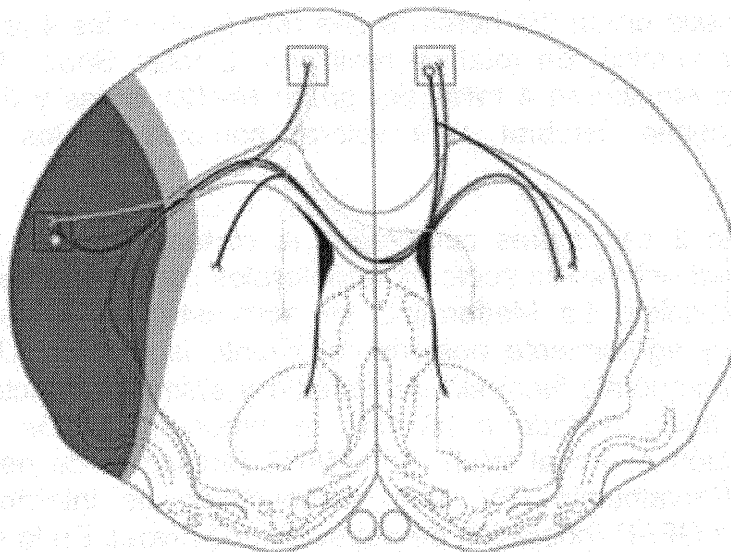


Figura 4. Esquema de un corte coronal de cerebro de rata a nivel de la corteza motora dorsolateral, anterior a la unión de la comisura blanca. En lado izquierdo, la zona lateral en gris oscuro delimita el núcleo isquémico, la zona gris clara denota la penumbra isquémica. Las regiones corticales exofocales ipsilaterales y contralaterales están en recuadro con representación de las conexiones corticocorticales y corticoestriatales

Todos los datos de conteos de neuronas se expresaron con media y la desviación estándar estimada para cada experimento, esto incluye los resultados obtenidos para las pruebas de inmunohistoquímica y el Beam walking test. Para la comparación entre los grupos se empleó ANOVA de dos vías por los factores que pueden influir en los resultados (tratamiento, hemisferio y lámina cerebral) considerando una $p < 0,05$ como

indicador de significancia estadística de las diferencias. Se usó el software GraphPad para el análisis y la realización de las gráficas. Los resultados de las pruebas comportamentales no se compararon estadísticamente por no presentar una distribución normal.

RESULTADOS (presentados por objetivo específico)

1. Cuantificar el efecto de la Metformina administrada crónicamente previa a la isquemia sobre el tamaño de infarto.

La siguiente tabla resume la estimación del área isquémica corregida en cada corte coronal y el volumen total del infarto en cada grupo experimental. Se determinó el área de isquemia en cortes cerebrales y su volumen al multiplicarlo por el grosor de cada corte coronal (2 mm).

Grupo/Cortes cerebrales	Área Normal Ipsilateral mm ²	Área Contralateral mm ²	Área isquemia corregida mm ²	Volumen en cada corte coronal del infarto mm ³
Metformina post-1	32,9	44,92	12,02	24,04
Metformina post-2	29,3	55,26	25,96	51,92
Metformina post-3	40,78	66,2	25,42	50,84
Metformina post-4	49,74	63,05	13,31	26,62
Volumen total del infarto en mm³ Metformina post				153,42
Metformina pre-1	25,5	32,58	7,08	14,16
Metformina pre-2	27,87	46,55	18,68	37,36
Metformina pre-3	49,5	60,11	10,61	21,22
Metformina pre-4	73,81	60,94	5,77	11,54
Volumen total del infarto en mm³ Metformina pre				84,28
Solución salina-1	23,9	39,45	15,55	31,1
Solución salina-2	28,67	53,02	24,35	48,7
Solución salina-3	33,07	61,07	28	56
Solución salina-4	36,43	60,94	24,51	49,02
Volumen total del infarto en mm³ Solución Salina				184,82

El tamaño del infarto fue mayor en el grupo isquémico+salina, seguido por el grupo isquémico+Metformina post-isquémica, y finalmente, el menor tamaño del infarto lo presentó el grupo isquemia+Metformina pre-isquemia. El tamaño del infarto en el grupo isquemia+Metformina post-isquemia es 17% menor que el grupo isquemia+salina. El tamaño del infarto en el grupo isquemia+Metformina pre-isquemia es 54% menor que el

del grupo isquemia+salina y 45% menor que en el grupo isquemia+Metformina post-isquemia.

2. Contrastar los cambios celulares inducidos por el tratamiento crónico con Metformina pre-isquemia y agudo post-isquemia en regiones cerebrales exofocales.

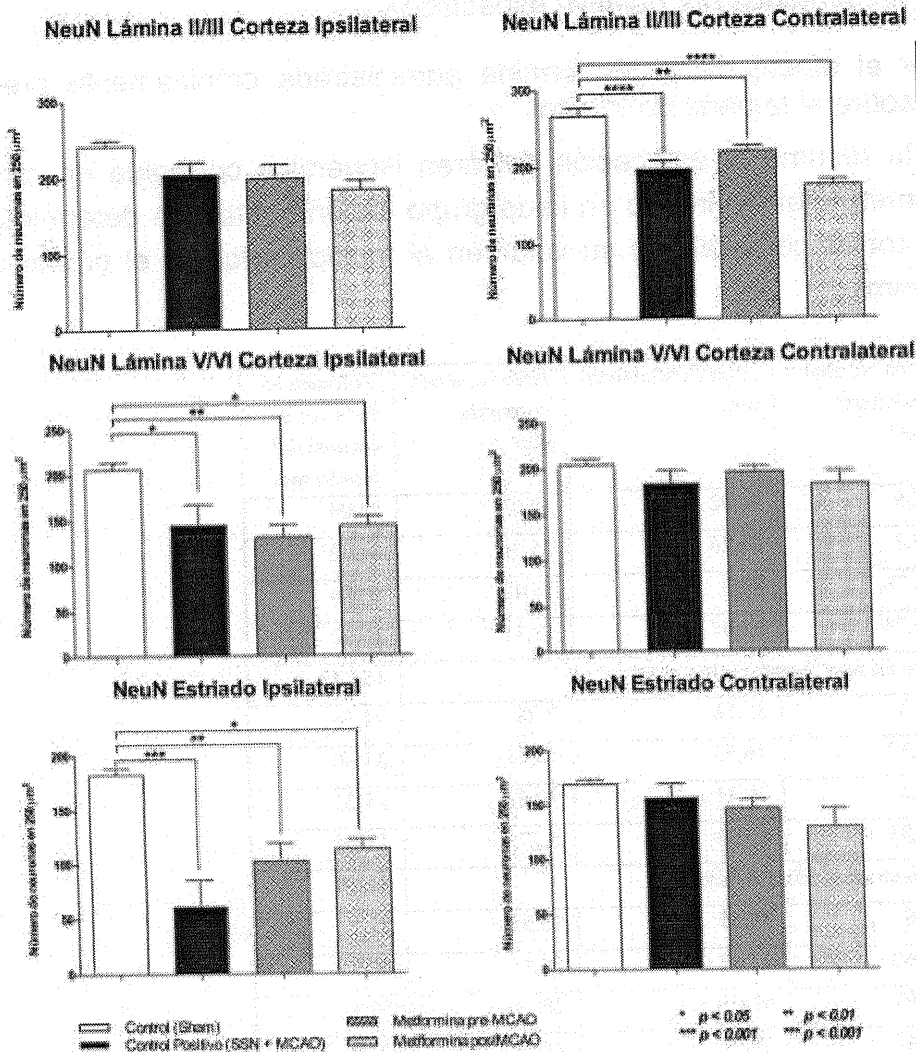


Figura 5. Cantidad total de neuronas por cada grupo experimental. Se presentan medias y SD. Se encontraron diferencias significativas en el conteo en lado ipsilateral y contralateral exofocal en todos los grupos al compararse contra el grupo Sham * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$.

Se encontró una reducción de neuronas viables en las regiones exofocales valoradas de los grupos experimentales al ser comparados con el Sham (control negativo), especialmente en las capas supragranulares contralaterales, las capas infragranulares ipsilaterales y el estriado ipsilateral. El tratamiento con Metformina tuvo sus mayores efectos en las capas infragranulares ipsilaterales y el estriado ipsilateral, mejorando los conteos neuronales, principalmente cuando el tratamiento se aplicó pre-isquemia (ver

figura 5).

3. Evaluar el efecto protector de la Metformina sobre las neuronas piramidales y no-piramidales de la corteza cerebral y sobre neuronas del estriado, todas ubicadas exofocalmente a la lesión isquémica.

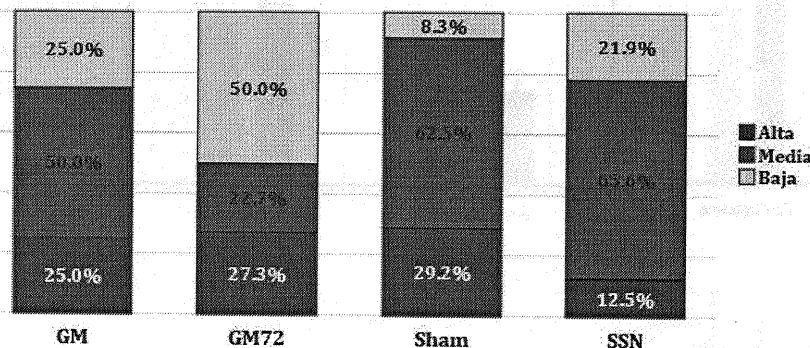
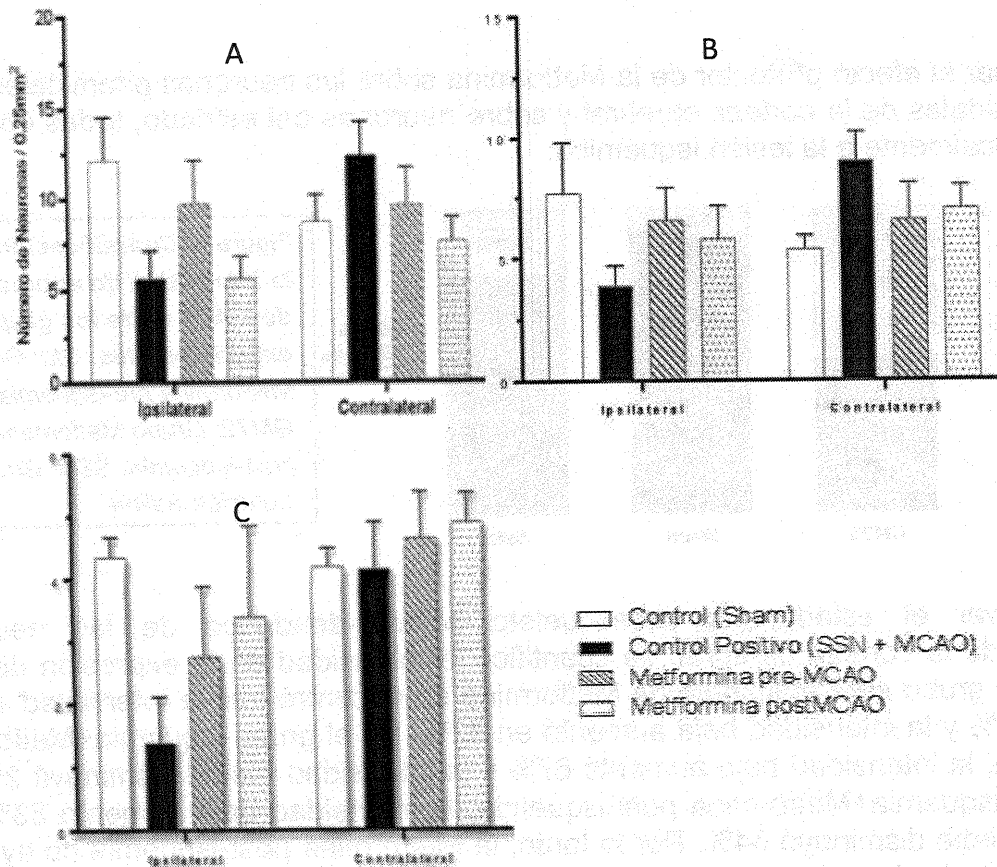


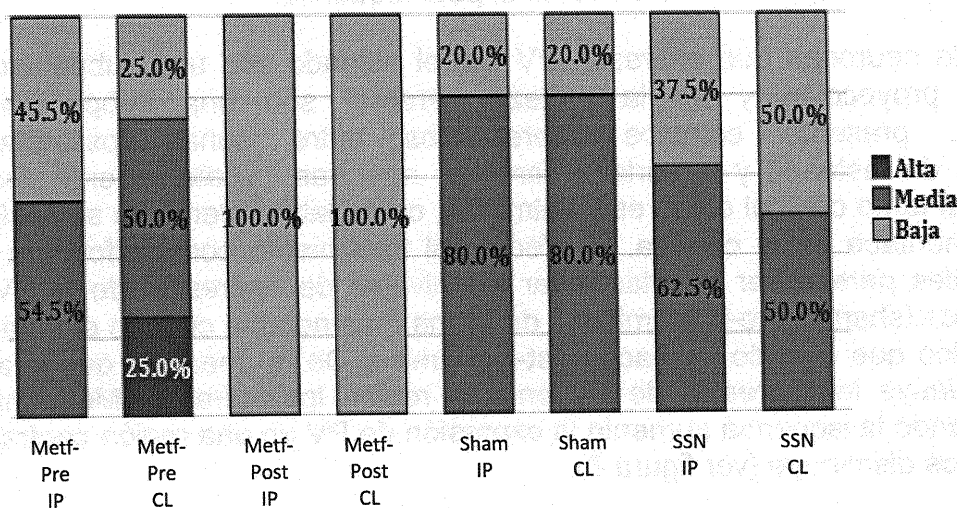
Figura 6. Cuantificación de la intensidad de expresión de MAP2 entre los grupos experimentales. GM: Grupo Metformina pre-isquemia; GM72: Grupo Metformina post-isquemia; SSN: Grupo Solución Salina

Para observar el estado del citoesqueleto somato-dendrítico de las neuronas piramidales de la corteza cerebral, se cuantificó la intensidad en la expresión de Anti-MAP2. En el grupo sin tratamiento de Metformina se encontró que la intensidad alta se perdió en 57% y la intensidad baja aumentó en 62%. En el grupo isquemia+Metformina pre-isquemia, la intensidad baja aumentó 67% y la intensidad media disminuyó 20%. Y en el grupo isquemia+Metformina post-isquemia, la intensidad baja aumentó 83% y la intensidad media disminuyó 64%. Por lo tanto, la Metformina post-isquemia no ayuda a mejorar el estado de las neuronas piramidales porque disminuye mucho la intensidad media y aumenta mucho la intensidad baja, indicando que la integridad del citoesqueleto neuronal se pierde y por consiguiente, las conexiones aferentes a estas. La Metformina pre-isquemia parece no tener un mejor efecto que el tratamiento con solución salina, pero si que el de la Metformina post-isquemia.

La densidad de neuronas que expresan PV (en el estriado son una subpoblación de neuronas de proyección y en la corteza cerebral son una subpoblación de interneuronas), presentó cambios diferenciales entre zonas ipsilaterales y contralaterales del estriado y la corteza cerebral; mientras ipsilateralmente disminuía tras la isquemia tanto cortical como estriatalmente, contralateralmente se sostenía en el estriado y aumentaba en la corteza. El efecto del tratamiento con Metformina en las zonas exofocales parece ser intentar llevar los niveles de expresión de la PV a los niveles normales (sham o pre-isquémicos), de forma más notable cuando el tratamiento es pre-isquémico que cuando se hace post-isquémico. De tal manera, que cuando la isquemia disminuye la expresión de PV en una región ipsilateral, la Metformina los aumenta; y cuando la isquemia aumenta la expresión de PV en una región contralateral, la Metformina los disminuye (ver figura 7).

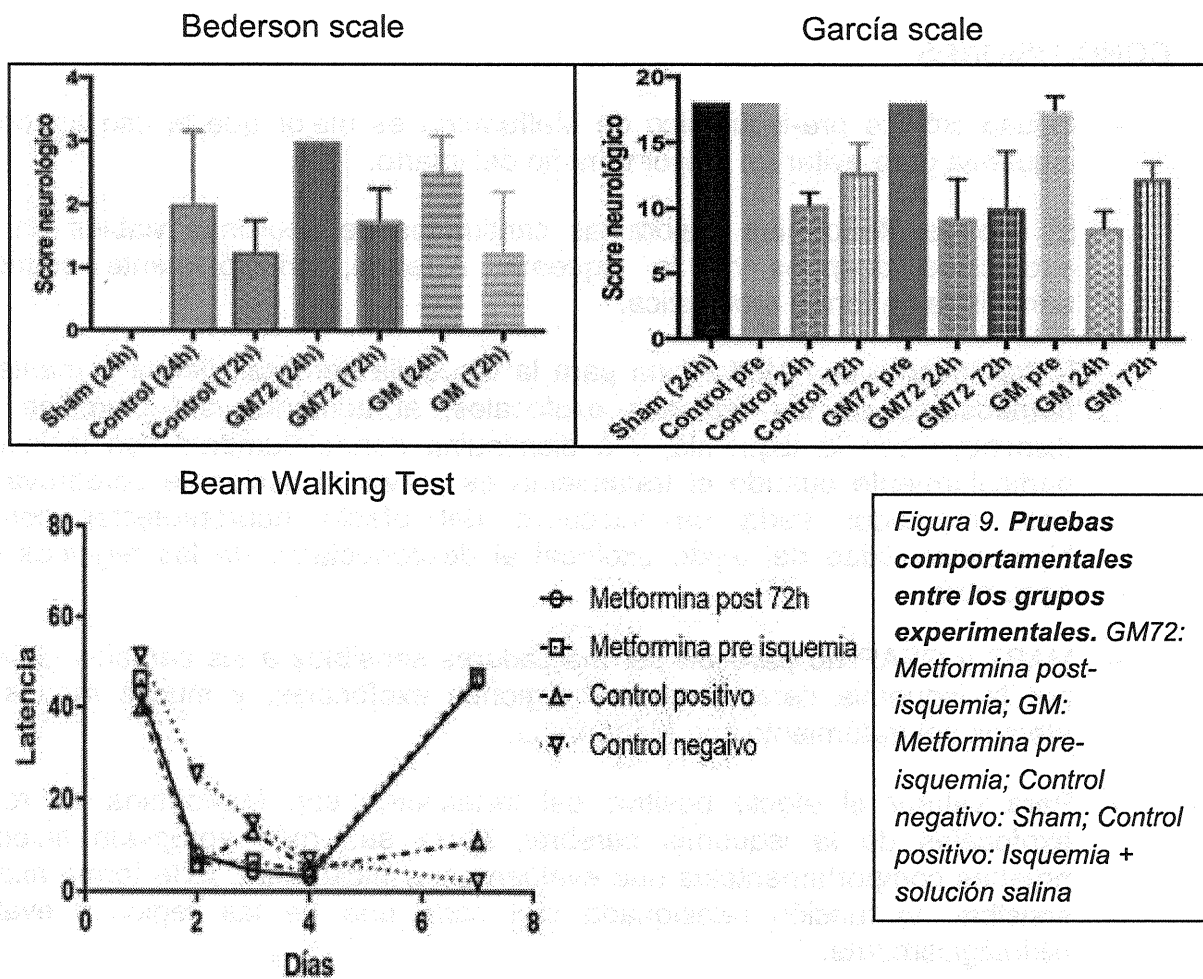


4. Evaluar y comparar la reactividad glial en zonas cerebrales exofocales, entre los diferentes grupos experimentales con tratamiento y sin tratamiento de Metformina.



La expresión de GFAP aumentó significativamente tras la isquemia en las zonas alrededor del foco y de la penumbra tal como es esperado en esta y en muchas patologías del sistema nervioso, pero disminuyó en las zonas exofocales, más aún en las regiones contralaterales. El tratamiento con Metformina post-isquemia generó una reducción aun mayor de la expresión de GFAP tanto ipsi como contralateralmente. Por su parte, el tratamiento con Metformina pre-isquemia generó cambios diferenciales entre regiones ipsi y contralaterales. Ipsilateralmente, no difirió de la expresión con el tratamiento con solución salina; mientras contralateralmente, la alta intensidad en la expresión aumentó como no fue vista en ninguno de los otros grupos experimentales. En general, parece no haber una reactividad glial en regiones exofocales tras la isquemia cerebral pero el tratamiento con Metformina tiene efectos opuestos entre administrarla pre y post-isquemia (ver figura 8).

5. Evaluar comportamentalmente el efecto del tratamiento con Metformina entre los diferentes grupos experimentales.



La evaluación comportamental se llevó a cabo con las Escalas Neurológicas de

Bederson y García y con la prueba de habilidad motora Beam Walking Test. Las escalas neurológicas fueron aplicadas en 2 momentos: 24 y 72 horas después de la isquemia cerebral; mientras la prueba de habilidad motora se aplicó después de la isquemia, a las 24, 48, 72, 96 horas y a los 7 días. En las Escalas de Bederson y García se observó que el estado neurológico de los animales era peor a las 24 que a las 72 horas, sin afectación de este por el tratamiento con Metformina, sea pre o post-isquemia. Por su parte, en el Beam Walking Test, se observó que el desempeño de los animales estaba afectado a las 24 horas post-isquemia y que mejoraba progresivamente a las 48, 72 y 96 horas, sin un efecto claro del tratamiento con Metformina, y luego el desempeño desmejoraba a los 7 días, en particular en aquellos animales tratados con Metformina (ver figura 9). No es posible conocer el correlato celular de los cambios en el desempeño sobre el Beam Walking Test a los 7 días post-isquemia porque nuestros análisis histológicos datan de las 72 horas exclusivamente. En general, parece que no hubo mejoría en el desempeño motor con el uso de Metformina pre o post-isquemia.

CONCLUSIONES

- El uso crónico pre-isquémico de Metformina es mejor que el uso agudo post-isquemia para evitar un mayor tamaño del infarto.
- El uso de Metformina mejora las cantidades de neuronas viables en zonas exofocales después de la isquemia cerebral, principalmente cuando se administra en forma profiláctica.
- El tratamiento con Metformina para la isquemia cerebral, tiende a mantener la homeostasis de las regiones exofocales, al aumentar su expresión donde disminuye con la isquemia, y a disminuirla donde aumenta con la isquemia, particularmente cuando el tratamiento es previo al accidente cerebrovascular. Este marcador sería un indicativo del efecto neuroprotector contra la hiperexcitabilidad del tejido exofocal al desconectarse de las regiones foco y penumbra.
- MAP2 y GFAP no parecen ser marcadores sensibles a los cambios generados por la isquemia cerebral en las regiones exofocales, y mucho menos a los efectos del tratamiento con Metformina.
- Para valorar el efecto positivo del tratamiento con Metformina en regiones exofocales de la isquemia cerebral, quizá sea más apropiado seleccionar pruebas comportamentales que evalúen específicamente, y de forma altamente sensible, la función relacionada con cada una de las regiones evaluadas histológicamente.



4. Impactos actual o potencial:

La ejecución de este proyecto de investigación tuvo un impacto mayor al esperado, dado que se convirtió en el trabajo de investigación de un estudiante de Maestría, al punto de presentarse su sustentación de tesis como producto; también porque estuvieron vinculadas tres estudiantes (y no sólo una como fue el compromiso), de pregrado en Medicina en calidad de semilleros de investigación. Una de ellas aprendió la técnica quirúrgica requerida para generar las isquemias cerebrales en las ratas y las otras 2 aprendieron a manipular los animales para las pruebas neurológicas y motoras.

Todos los estudiantes (de pregrado y postgrado) estuvieron vinculados durante la mayoría del tiempo que duró la ejecución del proyecto, tiempo durante el cual aprendieron a hacer observaciones microscópicas del tejido cerebral de la rata y a analizar los datos de las tinciones para medir el infarto, y de las pruebas comportamentales. Desde el punto de vista investigativo, también se superaron las expectativas, al presentarse los resultados en un evento nacional y 2 internacionales, uno de estos últimos, con distinción como 2do puesto a la mejor presentación oral, la cual fue hecha por una de las estudiantes de pregrado. De esta manera, los estudiantes de pregrado no solo estuvieron involucrados en la generación de datos en el laboratorio, sino también en la divulgación de los mismos. Así mismo, se publicó una revisión del tema específico alrededor del proyecto como artículo científico en una revista Q2 y actualmente se prepara otro con los resultados originales.

Ya tenemos preparada una propuesta de investigación más amplia sobre el tema que permita aumentar el N de los animales experimentales, seleccionar pruebas comportamentales más sensibles a la función de las regiones exofocales valoradas histológicamente, y con observaciones de los marcadores en periodos subagudos post-isquemia. Estamos a la espera de la apertura de una convocatoria, pero en este tipo de estudios, lo más difícil es encontrar estudiantes interesados en el tema y con habilidad para aprender la técnica quirúrgica requerida.

Si bien los resultados del presente proyecto son prometedores para el uso de la Metformina como tratamiento profiláctico contra los accidentes cerebrovasculares en pacientes con alto riesgo de los mismos, aun se requieren más estudios preclínicos que apunten a identificar no solo los efectos benéficos sino también los adversos, antes de iniciar los ensayos clínicos.

5. Productos:

Tabla No. 1. Cantidad y tipo de productos pactados en el *Acta de Trabajo y*



Compromiso y productos finalmente presentados

TIPO DE PRODUCTOS	No. de PRODUCTOS PACTADOS				No. de PRODUCTOS PRESENTADOS			
Productos de nuevos conocimientos								
Artículo en revista ISI-SCOPUS:	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
		1				1		
Artículo completo publicado en revistas indexadas	A1	A2	B	C	A1	A2	B	C
Libros de autor que publiquen resultados de investigación								
Capítulos en libros que publican resultados de investigación								
Productos o procesos tecnológicos patentados o registrados								
• Prototipos y patentes								
• Software								
Productos o procesos tecnológicos usualmente no patentables o protegidos por secreto industrial								
Normas basadas en resultados de investigación								
Formación de recursos humanos	No. de estudiantes vinculados	No. de tesis			No. De estudiantes Vinculados	No. De tesis		
Estudiantes de pregrado	1	1			3	0		
Semillero de Investigación	1				3			
Estudiantes de maestría	1	0			1	1		
Estudiantes de doctorado								



TIPO DE PRODUCTOS	No. de PRODUCTOS PACTADOS		No. de PRODUCTOS PRESENTADOS	
Joven investigador				
Productos de divulgación				
Publicaciones en revistas no indexadas				
Ponencias presentadas en eventos (congresos, seminarios, coloquios, foros)	No. de ponencias nacionales	No. de ponencias internacionales	No. de ponencias nacionales	No. de ponencias internacionales
	2	0	1	2
Propuesta de investigación				
Propuestas presentadas en convocatorias externas para búsqueda de financiación.	1		En proceso	

Tabla No. 2. Detalle de productos

Para cada uno de los productos obtenidos y relacionados en la tabla anterior, indique la información solicitada para cada uno, anexando copia de las respectivas constancias. Como anexo a este formato encontrará el instructivo para instructivo para la revisión de informes finales y productos

Tipo de producto comprometido:	Producto de nuevo conocimiento
Producto comprometido:	Artículo sometido en revista Q2
Producto entregado:	Artículo de revisión publicado en revista Q2



Nombre General:	Artículo en revista Q2: Stroke Research and Treatment. Volume 2017, Article ID 9756429, 13 páginas. https://doi.org/10.1155/2017/9756429
Nombre Particular:	To use or not to use Metformin in cerebral ischemia: A review of the application of Metformin in stroke rodents
Ciudad y fechas:	Mayo de 2017
Participantes:	Isaac Arbeláez-Quintero, Mauricio Palacios
Sitio de información:	Stroke Research and Treatment. ID 9756429. https://doi.org/10.1155/2017/9756429
Formas organizativas:	Centro de Estudios Cerebrales, Facultad de Salud, Universidad del Valle

Tipo de producto comprometido :	Formación de recurso humano
Producto comprometido :	Estudiante de Maestría vinculado
Producto entregado:	Tesis aprobada de Maestría en Ciencias Biomédicas
Nombre General:	Valoración de los cambios celulares exofocales de la Metformina suministrada crónicamente en un modelo de isquemia cerebral focal transitorio en ratas
Ciudad y fechas:	Cali, Colombia, Octubre 2 de 2017
Participantes:	Estudiante de Maestría en Ciencias Biomédicas Isaac Arbeláez, dirigido por el profesor Mauricio Palacios y asesorado por el profesor Efraín Buriticá
Formas organizativas:	Centro de Estudios Cerebrales, Facultad de Salud, Universidad del Valle
Tipo de producto comprometido :	Formación de recurso humano



Producto comprometido :	1 Estudiante de pregrado vinculado
Producto entregado:	3 Estudiantes de pregrado vinculados
Nombre General:	Las estudiantes de pregrado en Medicina y Cirugía: Beatriz Lucumí, Ingrid Otero y Ana María Villota
Fechas:	Agosto de 2015 - Julio de 2017
Participantes:	Las estudiantes de pregrado en Medicina y Cirugía: Beatriz Lucumí, Ingrid Otero y Ana María Villota
Formas organizativas:	Centro de Estudios Cerebrales, Facultad de Salud, Universidad del Valle

Tipo de producto comprometido :	Formación de recurso humano
Producto comprometido :	1 Estudiante de semillero de investigación
Producto entregado:	3 Estudiantes de semillero de investigación
Nombre General:	Las estudiantes de pregrado en Medicina y Cirugía: Beatriz Lucumí, Ingrid Otero y Ana María Villota, estuvieron matriculadas en los cursos Pasantía en Investigación I y II, y vinculadas al proyecto en mención
Fechas:	Agosto de 2016 - Septiembre de 2017
Formas organizativas:	Centro de Estudios Cerebrales, Facultad de Salud, Universidad del Valle
Tipo de producto comprometido :	2 Ponencias presentadas en eventos nacionales
Tipo de producto entregado:	1 Ponencia presentada en evento nacional
Nombre de la ponencia:	"Efectos exofocales del uso crónico de Metformina en un modelo de isquemia cerebral en rata"



Nombre del Evento:	XIX Simposio de Investigaciones en Salud
Organizado por:	Facultad de Salud, Universidad del Valle
Ciudad y fechas:	Cali, Colombia, Octubre de 2017
Participantes:	Isaac Arbeláez, Efraín Buriticá y Mauricio Palacios

Tipo de producto comprometido :	2 Ponencias presentadas en eventos nacionales
Tipo de producto entregado:	2 Ponencias presentadas en eventos internacionales
Nombre de la ponencia 1:	<i>"Efectos exofocales del uso crónico de Metformina en un biomodelo de isquemia cerebral focal"</i>
Nombre del Evento 1:	XI Congreso Nacional / XII Seminario Internacional de Neurociencias
Organizado por:	Colegio Colombiano de Neurociencias e IBRO (International Brain Research Organization)
Ciudad y fechas:	Bogotá, Colombia, Abril de 2018
Participantes:	Isaac Arbeláez, Beatriz Lucumí Villegas, Ana María Villota, Martha Isabel Escobar, Efraín Buriticá y Mauricio Palacios

Tipo de producto comprometido :	2 Ponencias presentadas en eventos nacionales
Tipo de producto entregado:	2 Ponencias presentadas en eventos internacionales
Nombre de la ponencia 2:	<i>"Evaluación neurológica del efecto de la Metformina en un modelo de isquemia cerebral con perfusión en ratas"</i>
Nombre del Evento 2:	I Congreso Internacional de Neurociencias del Envejecimiento



Organizado por:	Colegio Colombiano de Neurociencias, IBRO (International Brain Research Organization), y Semillero de Neurociencias y Envejecimiento PUJ
Ciudad y fechas:	Bogotá, Colombia, Octubre de 2016
Participantes:	Beatriz Lucumí Villegas, Ana María Villota, Ingrid Otero, Isaac Arbeláez y Mauricio Palacios

Tipo de producto comprometido :	Ninguno
Tipo de producto entregado:	Premio, distinción o reconocimiento
Nombre del premio:	2do puesto como mejor presentación oral por el trabajo titulado <i>"Evaluación neurológica del efecto de la Metformina en un modelo de isquemia cerebral con perfusión en ratas"</i>
Evento u organización que entrega el premio:	I Congreso Internacional de Neurociencias del Envejecimiento, III Concurso Nacional Estudiantil de Conocimientos en Neurociencias y VI Encuentro Nacional de Semilleros de Investigación en Neurociencias y Neuropsicología
Ciudad y fechas:	Bogotá, Colombia, Octubre 21 de 2016
Premiados:	Beatriz Lucumí Villegas, Ana María Villota, Ingrid Otero, Isaac Arbeláez y Mauricio Palacios

Debo aclarar que el 20 de Noviembre del 2018, entregué una carta con los soportes de todos los productos relacionados en las tablas 1 y 2 del presente informe.

La presente versión del informe contiene las observaciones de los evaluadores:

Efraín Beritica R.

Firma del investigador principal

VoBo. Vicedecano de Investigaciones

Por favor presente su informe impreso y en formato digital en hoja tamaño carta, letra arial 11, con espacios de 1 1/2

