

244  
2ej.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

U. N. A. M.

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN**

Facultad de Estudios Superiores  
Cuautilán



Departamento de  
Fisiología y Bioquímica

**"EVALUACION DE LAS REACCIONES ADVERSAS  
EN HIGADO PROVOCADAS POR SECNIDAZOL  
MEDIANTE METODOS ENZIMATICOS EN RATAS  
WISTAR MACHO"**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA**

**P R E S E N T A :**

**MIREYA MENDOZA ROMERO**

**ASESORES: OFB MA EUGENIA R POSADA GALARZA  
M EN C LILIANA FAVARI PEROZZI**

**CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.**

**1997**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



INSTITUTO NACIONAL  
AVENIDA DE  
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLAN



Departamento de  
Exámenes Profesionales

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES  
DIRECTOR DE LA FE-CUAUTITLAN  
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

"Evaluación de las reacciones adversas en hígado provocadas por secnidazol mediante métodos enzimáticos en ratas wistar macho"

que presenta la pasante: Mireya Mendoza Romero  
con número de cuentas: 9156160-4 para obtener el TITULO de:  
Química Farmacéutica Biológica

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
Cuautitlan Izcalli, Edo. de Méx., a 18 de Abril de 1997

PRESENTE	<u>M. en C. Luisa Martínez Aguilar</u>	<u>[Firma]</u>
VOCAL	<u>C.F.B. Ma. Eugenia R. Posada Galarza</u>	<u>[Firma]</u>
SECRETARIO	<u>C.F.B. Ma. Esther Revuelta Miranda</u>	<u>[Firma]</u>
PRIMER SUPLENTE	<u>Dr. Francisco López Mejía</u>	<u>[Firma]</u>
SEGUNDO SUPLENTE	<u>C.F.B. Guadalupe Koizumi Castro</u>	<u>[Firma]</u>

## MILAGRO DIVINO

*A eso de caer  
y volver a levantarte.*

*De fracasar y volver a comenzar.*

*De seguir un camino y tener que torcerlo.*

*De encontrar el dolor y tener que afrontarlo.*

*A eso, no le llames adversidad, llámale sabiduría.*

*A eso de sentir  
la mano de Dios y saberte impotente.*

*De fijarte una meta y tener que seguir otra.*

*De huir de una prueba y tener que encararla.*

*De planear un vuelo y tener que recortarlo.*

*De aspirar y no poder, de querer y no saber,  
de avanzar y no llegar.*

*A eso, no le llames castigo, llámalo enseñanza.*

*A eso, de pasar  
días juntos radiantes, días felices  
y días tristes, días de soledad y días de compañía.*

*A eso, no le llames rutina, llámalo experiencia.*

*A eso, de que tus ojos miren  
y tus oídos oigan,*

*y tu cerebro funcione, y tus manos trabajen,*

*y tu alma irradie, y tu sensibilidad sienta,*

*y tu corazón ame.*

*A eso, no le llames poder humano llámule*

**MILAGRO DIVINO.**

**DEDICO ESTE TRABAJO A :**

**MIS PADRES :**

*Rafael Mendoza y Maricruz Romero : de los cuales estoy muy orgullosa y a los que les agradezco el gran amor, la comprensión, paciencia y todo el apoyo que me han brindado hasta este momento, por haber confiado en mí. Gracias a su esfuerzo y su sacrificio hoy se cumple una meta que ustedes y yo nos habíamos planteado y que gracias a Dios la hemos alcanzado, porque este triunfo no sólo es mío sino también es suyo. Los quiero mucho.*

**MI TÍA :**

*Cristina Romero por ser como una segunda madre para mí durante toda mi carrera, por darme todo su apoyo incondicionalmente y por haberme dado un lugar en su familia durante todo este tiempo.*

**MIS SOBRINOS :**

*Karen y Rafael por que con una sonrisa, un beso, un abrazo ; me mostraban su apoyo y me alentaban a seguir adelante.*

## **AGRADECIMIENTOS :**

*Agradezco primeramente a Dios por haberme concedido la vida hasta este momento , por haber puesto en mi camino a todas y cada una de las personas que con una palabra, una sonrisa, un gesto me alentaron a seguir adelante, gracias Señor por ser mi amigo incondicional y por mostrarme tu grandeza a cada momento , gracias por esta grande bendición.*

*"Y todo lo que hacéis sea de palabra ó de hecho, hacedlo todo en el nombre del Señor Jesús, dando gracias a Dios Padre por él." Colosenses 3 :17.*

### **A MIS HERMANOS :**

*Guadalupe y Rafael por su cariño, por que me apoyaron en sus posibilidades, por que siempre conflatron en mí , por ser mis hermanos.*

### **A LA FAMILIA GUERRERO:**

*A Luisa, Cristina, Carlos por aceptarme como un miembro más de su familia y por todo el apoyo incondicional que me han brindado.*

*A Felipe porque ha sido para mí un gran amigo durante todo este tiempo, porque siempre estuvo dispuesto a ayudarme y a brindarme su apoyo.*

*En general a toda la familia porque siempre estuvieron dispuestos a ayudarme.*

### **A MI ABUELITA :**

*Agradezco a mi Abuelita por su cariño y preocupación por mí.*

*A la Profesora Ma. Eugenia Posada Galarza por su apoyo, paciencia y comprensión brindados durante la realización de este trabajo , por sus conocimientos y consejos los cuales contribuyeron a mi formación académica y profesional.*

*A la M. C. Liliana Favari Perozzi por todo el apoyo y las facilidades ofrecidas para la posible realización de este trabajo, por ser una persona accesible y que siempre estuvo dispuesta a resolver mis dudas.*

*A Ma. Teresa García Camacho y Antonio Sánchez Trujillo por todo el apoyo técnico brindado en la realización de este proyecto y por su amistad.*

*A los integrantes de mi jurado por la disposición para afinar los detalles de este trabajo.*

*Q.F.B. Ma. Eugenia R. Posada Galarza*

*M. en C. Lulsa Martínez Aguilar*

*Q.F.B. Ma. Esther Revueltas Miranda*

*DR. Francisco López Mejía*

*Q.F.B. Guadalupe Koizumi*

*Al profesor Héctor Coss por su valiosa asesoría para la realización del tratamiento estadístico de los datos.*

*A todos los profesores que contribuyeron con sus conocimientos y experiencias a mi formación académica hasta este momento.*

*A la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme formar parte de ella y en especial a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán por haberme alojado en sus aulas en las que adquirí muchos conocimientos y en las que me he formado y con la que tengo un gran compromiso.*

*A todos esos grandes compañeros de la 18ava. Generación de Q.F.B. con los que compartí momentos inolvidables. En especial a las personas que estuvieron siempre cerca de mí y dispuestas a ayudarme en todo momento a : Adriana L., Gris, Lety, Meche, Elizabeth G., Claudia V., Martha, Gloria, Tere, Gaby R., Claudia F., Miguel, Edmundo, Mario Eduardo, Juan Carlos F., Rosaura, Cheo, Jorge, Angélica Ma., Francisco Rebollo, Tomás, Gamaliel, Edith, Vero U., Mireya J., Marco, Rubén B., Hugo R., Víctor, Martincito, Lupita U., Martín, Ibeth, Chirris, Claudia G., Irma.*

*Agradezco a la Fam. Sauza porque siempre estuvieron dispuestos a ayudarme y porque sé que en sus han estado orado por mí en sus últimas oraciones que Dios les pague con ricas y grandes Bendiciones.*

*Al Hno. José Luis Gamez y esposa y a la Iglesia de el Buen Pastor en la Arcadia Tehuacán por sus oraciones que Dios les pague con ricas y grandes Bendiciones.*

*A Martita por haberme facilitado el uso de la computadora para la impresión de este trabajo.*

*A la Tía Emma por el apoyo brindado en el transcurso de estos años.*



**EVALUACIÓN DE LAS REACCIONES ADVERSAS EN  
HÍGADO PROVOCADAS POR SECNIDAZOL MEDIANTE  
MÉTODOS ENZIMÁTICOS EN RATAS WISTAR.**

## ÍNDICE

	Pág.
<b>ABREVIATURAS</b>	<b>i</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>ii</b>
<b>1.- INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>2.- OBJETIVOS</b>	<b>3</b>
<b>3.- HIPÓTESIS</b>	<b>4</b>
<b>4.- MARCO TEÓRICO</b>	<b>5</b>
<b>4.1. REACCIONES ADVERSAS</b>	<b>5</b>
4.1.1. Consideraciones generales	5
4.1.2. Definición	8
4.1.3. Clasificación	8
4.1.4. Frecuencia	15
4.1.5. Predisposición a las reacciones adversas	17
4.1.6. Reacciones adversas generales	20
4.1.7. Prevención de las reacciones adversas	23
4.1.8. Evaluación de las reacciones adversas	25

<b>4.2. AMIBIASIS</b>	<b>27</b>
4.2.1. Definición	27
4.2.2. Agente etiológico	27
4.2.3. Importancia	28
4.2.4. Clasificación	29
4.2.5. Ciclo vital de <i>Entamoeba histolytica</i>	31
<b>4.3. FARMACOLOGÍA DE LOS AMIBICIDAS</b>	<b>35</b>
4.3.1. Definición de amibicida	35
4.3.2. Clasificación de los amibicidas	35
4.3.3. Farmacología de Secnidazol	39
4.3.3.1. Origen y química	39
4.3.3.2. Farmacocinética	40
4.3.3.3. Farmacodinamia	44
4.3.3.4. Interacciones medicamentosas	45
4.3.3.5. Alteraciones de pruebas de laboratorio	45
4.3.3.6. Reacciones adversas	46
4.3.3.7. Contraindicaciones	46
4.3.3.8. Indicaciones y dosificación	47
4.3.3.9. Preparados	47

<b>5. PARTE EXPERIMENTAL</b>	<b>48</b>
<b>5.1. MATERIAL</b>	<b>48</b>
5.1.1. Material biológico	48
5.1.2. Fármacos	48
5.2. CONDICIONES DEL EXPERIMENTO	49
5.3. DESARROLLO EXPERIMENTAL	49
<b>6. RESULTADOS</b>	<b>52</b>
<b>7.- DISCUSIÓN</b>	<b>59</b>
<b>8.- CONCLUSIONES</b>	<b>64</b>
<b>9.- APÉNDICE I</b>	<b>65</b>
9.1. FOSFATASA ALCALINA	65
9.2. TRANSAMINASA GLUTÁMICO PIRUVICA	67
9.3. GAMMA GLUTAMIL TRANSPeptIDASA	70
9.4. GLUCÓGENO	73
9.5. LIPOPEROXIDACIÓN	74

9.6. PROTEÍNAS	77
9.7. COLÁGENA	78
9.8. BILIRRUBINA	87
9.9. TRANSAMINASA GLUTÁMICO OXALACÉTICA	91
<b>10.- APÉNDICE II</b>	<b>93</b>
10.1. MODELO ESTADÍSTICO	93
10.2. PRUEBA APOSTERIORI Ó DMSH Ó TUCKEY	96
<b>11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>101</b>

## ABREVIATURAS

<b>B.D.</b>	<b>Bilirrubina directa</b>
<b>B.I.</b>	<b>Bilirrubina indirecta</b>
<b>Col.</b>	<b>Colágena</b>
<b>F.A.</b>	<b>Fosfatasa alcalina</b>
<b>GGT</b>	<b>Gamma glutamil transpeptidasa</b>
<b>Glu.</b>	<b>Glucógeno</b>
<b>Lipo.</b>	<b>Lipoperoxidación</b>
<b>MA</b>	<b>Malonaldehído</b>
<b>TGO</b>	<b>Transaminasa glutámica oxalacética</b>
<b>TGP</b>	<b>Transaminasa glutámica pirúvica</b>
<b>P.</b>	<b>Proteínas</b>
<b>DMSH</b>	<b>Diferencia mínima significativa honesta</b>

## RESUMEN

El secnidazol es un fármaco antimibiano de reciente aparición en México; este fármaco es dos veces más activo que el metronidazol , es efectivo en el 56% de portadores de quistes lo cual indica que también tiene acción luminal. Se administra en tratamientos de un día. En la literatura sólo se reportan reacciones adversas como : vómito, náuseas, ardor epigástrico y mal sabor de boca.

Y en trabajos recientes a nivel histológico se ha encontrado que causa daño a nivel morfológico en el hígado de rata por lo que en este trabajo se realiza una evaluación funcional de este órgano para ampliar la información sobre las reacciones adversas que puede provocar el Secnidazol.

Para este estudio se determinaron las siguientes enzimas séricas : Fosfatasa alcalina, Transaminasa glutámica pirúvica, Transaminasa glutámica oxalacética y Gamma-glutamil transpeptidasa ; así como la Bilirrubina directa e indirecta en suero y el posible daño membranar mediante la prueba de la lipoperoxidación en tejido hepático, además de la determinación de la cantidad de colágena y glucógeno presente en hígado.

Se administraron dosis de Secnidazol de 15 mg/kg y 30 mg/kg a ratas Wistar macho de 250 - 300 g. Se administró el fármaco durante 5 tratamientos, cada tratamiento con una duración de tres días de administración y tres días de descanso, es decir sin fármaco ; esto

se realizó para cada dosis, contando con un control para cada tratamiento. Después de cada tratamiento se realizó la toma de muestra y las determinaciones ya mencionadas anteriormente.

Obteniéndose que el Secnidazol altera la actividad enzimática de la Transaminasa glutámico pirúvica y oxalacética, de la Gamma-glutamil transpeptidasa, así como la concentración de Bilirrubina directa e indirecta; ya que las transaminasas son indicativas de necrosis a nivel de la célula hepática, la Bilirrubina directa e indirecta y la Gamma-glutamil transpeptidasa son indicativas de daños hepatobiliares, por lo que se concluye que el Secnidazol sí provoca un efecto adverso a nivel funcional hepático.



## 1. INTRODUCCIÓN

La creciente capacidad de proveer los medios para alterar el curso de muchas enfermedades, ha contribuido a aumentar la cantidad y calidad de fármacos que se usan en la práctica médica. Sin embargo, este acontecimiento favorable, no ha sido del todo benigno porque los fármacos además de sus efectos benéficos también producen otros adversos y en la actualidad dichas reacciones constituyen un grave problema.<sup>5,4</sup>

Debemos entender como reacción adversa todo aquel efecto nocivo que ocasionan los fármacos, el cual es no deseado por el médico que lo prescribió y que se presenta en pacientes que lo han recibido en dosis administradas con fines terapéuticos, profilácticos o de diagnóstico.<sup>2,7</sup>

Las reacciones adversas son la causa de un alto índice de morbilidad. Se ha estimado que una de cada 1000 reacciones adversas e interacciones tienen un resultado fatal.<sup>2,4</sup>

No hay duda que la frecuencia de las reacciones adversas provocadas por fármacos ha ido en aumento en estos últimos tiempos debido a la multiplicidad de los mismos y sobre todo al empleo de fármacos farmacológicamente potentes.<sup>3</sup>

Las reacciones adversas inducidas por los fármacos son el precio que hay que pagar por los productos más eficaces.<sup>5</sup> Por lo tanto, al estudiar los medicamentos sobre todo los nuevos, es necesario establecer la relación riesgo/beneficio, es decir, la proporción entre los beneficios y los riesgos que presenta su eficacia y su inocuidad o tolerabilidad.<sup>5</sup>

En muchas ocasiones se cuenta con una amplia información acerca de los efectos terapéuticos de aquellos fármacos nuevos en el mercado ; sin embargo, se cuenta con muy poca información publicada acerca de las reacciones adversas que provocan, de tal forma que todos los profesionales de la salud que de una u otra forma están interesados en estos medicamentos carecen de una información clara y completa sobre los beneficios y riesgos que proporciona el nuevo medicamento.

Por esta razón, se ha realizado este trabajo en el que se investigan las posibles reacciones adversas provocadas por secnidazol, un antiambiano potente, a nivel hepático en ratas Wistar macho mediante métodos enzimáticos.

El secnidazol es un antiambiano de larga vida tisular, por esta razón se indica en casos de amibiasis intestinal sintomática<sup>19</sup>. La amibiasis causada por *Entamoeba histolytica* es una enfermedad que tiene un alcance mundial y ha provocado un alto índice de morbilidad y mortalidad; en México se encuentra entre las 20 principales causas de morbilidad<sup>13,28</sup>.

Se ha desarrollado esta investigación por la importancia que tiene este tipo de medicamentos en la salud pública, por la alta frecuencia de amibiasis en nuestro país y por los notorios beneficios terapéuticos que ofrece secnidazol (Secnidal) en el tratamiento de la amibiasis, así como la escasa información que se tiene publicada en relación con las reacciones adversas de este antiambiano potente, ya que es un fármaco de reciente aparición en el mercado.

## **2. OBJETIVO:**

- ◆ **Evaluar el daño hepático provocado por secnidazol, en ratas Wistar macho mediante métodos enzimáticos.**

### **3. HIPÓTESIS:**

- Si la administración de Secnidazol produce daño morfológico a nivel hepático visible a través de la observación del hígado de rata en el microscopio óptico y en el electrónico, entonces puede existir un probable daño funcional en este órgano que puede ser demostrado mediante la realización de pruebas enzimáticas hepáticas como la alteración de la cantidad de colágena y glucógeno, así como el posible daño a nivel membranar por la determinación de la lipoperoxidación.

## 4. MARCO TEÓRICO

### 4.1. REACCIONES ADVERSAS

#### 4.1.1. Consideraciones generales:

La seguridad de los medicamentos es un tema de gran importancia para todos. Se espera que los medicamentos actuales sean eficaces, pero ¿producirán efectos secundarios? ¿cómo serán éstos? ¿es posible que puedan ser peores que la enfermedad que tratan? Estas preguntas son igualmente importantes para el fabricante, que ha intervenido muchos años en investigación y desarrollo para producir el fármaco y para las autoridades sanitarias competentes que habiendo examinado los volúmenes de información incluidos en la solicitud de registro del producto, han dado su aprobación, al menos por el momento, para que se comercialice el medicamento. Sin embargo, la respuesta a estas cuestiones no es tan fácil como pudiera parecer a simple vista y por este motivo, ha evolucionado la ciencia de la farmacovigilancia.<sup>4</sup>

Con el descubrimiento de nuevos fármacos de mayor eficacia, es necesario considerar además, de su eficacia terapéutica (beneficio) la posibilidad de que causen efectos secundarios (riesgo). No sólo debería ser posible evaluar la relación beneficio-riesgo de toda la población potencial de pacientes, sino que además el clínico tiene que considerar los riesgos y beneficios de cada fármaco que prescribe a sus pacientes. Obviamente, el uso de un fármaco eficaz que produzca

efectos secundarios graves, es más aceptable en un paciente que padezca una enfermedad potencialmente fatal que el uso de un fármaco de toxicidad similar, pero eficaz en un paciente que padezca una enfermedad autolimitada. Sin embargo, ¿se sabe cuáles son los efectos secundarios de un fármaco?.<sup>4</sup>

Después de administrar un fármaco, es posible observar dos tipos de acciones: el efecto deseado, esto es, la acción clínicamente conveniente y beneficiosa que buscó el médico, y los efectos indeseados ( que a veces aparecen con los deseados), que son fenómenos adicionales no buscados originalmente. Estas últimas alteraciones pueden ser dañinas o inofensivas y si son lesivas, reciben el nombre de reacciones adversas de los fármacos.<sup>4</sup>

Se designan *reacciones adversas* a las producidas por un fármaco y que no son las que el médico busca, y por el contrario son perjudiciales para el paciente.<sup>3</sup>

La FDA ha adoptado oficialmente el término de reacciones adversas, que incluye todos los términos aplicados para los efectos indeseados. La definición oficial de una *reacción adversa* en los E.U. es: *es una experiencia asociada al uso de fármacos, sea o no provocada por el fármaco, incluye algunos efectos colaterales, daño, toxicidad o reacción sensitiva o error provocado por la acción farmacológica esperada*.<sup>2</sup>

Las reacciones adversas son responsables de un alto índice de morbilidad. Se ha estimado que una de cada 1,000 reacciones adversas e interacciones tienen un resultado fatal.<sup>2</sup>

En circunstancias óptimas no surgirían efectos adversos si se administra el fármaco adecuado, al paciente indicado, en las dosis conveniente (forma, cantidad e intervalo) y por la vía más apropiada, en el momento exacto y para la enfermedad perfectamente diagnosticada. Esta situación rara vez se observa en la práctica porque ningún medicamento es tan específico que origine sólo los efectos deseados y buscados en todos los individuos.<sup>1</sup>

Cerca de 5% de los pacientes que reciben tratamiento médico, sufren reacciones adversas graves. Casi un 20% de éstas se deben a fármacos nuevos, probablemente porque se conoce menos sobre su potencial para las reacciones adversas. El tratamiento con fármacos causa reacciones que ponen en peligro la vida en menos de 1% de pacientes, aunque contribuye hasta para un 4% de hospitalizaciones, con un costo alto.<sup>8</sup>

La frecuencia de reacciones adversas ha aumentado en años recientes debido al hecho fundamental de que cada vez más pacientes ingieren mayor cantidad de fármacos, a menudo por lapsos mayores; se utilizan más fármacos en combinación, sin conocimiento de su farmacocinética y de las enfermedades que se pretenden combatir con ellos.<sup>2</sup>

Los responsables que se dedican al desarrollo, prescripción y dispensación de los agentes terapéuticos deben hacer mayor conciencia para evitar al máximo las reacciones adversas y aumentar el efecto deseado de los fármacos utilizados en la práctica terapéutica.<sup>2</sup>

#### 4.1.2. Definición

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define como *reacción adversa o efecto indeseable a cualquier efecto inesperado de un medicamento que aparece tras la administración de las dosis habituales con fines terapéuticos, diagnósticos o profilácticos. Quedan excluidos de esta definición los errores de administración y posológicos, intoxicaciones voluntarias y toxicomanías.*<sup>6</sup>

La Administración de Alimentos y Drogas (FDA) define a la *reacción adversa a un fármaco como una reacción que es nociva y no intencional y ocurre con dosis que se usan normalmente en el ser humano para profilaxis, diagnóstico o tratamiento de enfermedades.*<sup>5</sup>

#### 4.1.3. Clasificación de las reacciones adversas

Los fármacos pueden provocar diferentes tipos de reacciones indeseables o adversas. Ciertas reacciones pueden ser, en sentido estadístico, fácilmente previsibles en tanto que otras pueden ser difícilmente previsibles o inesperadas. Pero previsibles o inesperadas, lo que tienen en común es que son indeseables por inconvenientes, por peligrosas y por nocivas.<sup>7</sup>



Algunas de estas reacciones son de carácter tóxico y dependen más del fármaco en sí y de sus dosis que del paciente mismo, en cambio otras, dependen más bien del paciente en sí, como las reacciones alérgicas muchas de las cuales son inesperadas. Pero no toda reacción inesperada es de naturaleza alérgica.

Las Reacciones alérgicas o de hipersensibilidad, se clasifican según la OMS en 4 tipos clínicos principales:<sup>7</sup>

#### LAS REACCIONES DE TIPO 1 (Anafilácticas o reacciones de hipersensibilidad inmediata):

Comprenden la interacción del alérgeno (medicamento) con anticuerpos, lo que causa la liberación de mediadores químicos tales como la histamina.

#### LAS REACCIONES DE TIPO 2 (Citotóxicas):

Consisten en reacciones de fijación del complemento entre el antígeno y un anticuerpo presente en la superficie de algunas células (por ejemplo glóbulos rojos, glóbulos blancos, plaquetas) produciendo lisis de la célula.

### **LAS REACCIONES DE TIPO 3 (Mediadas por complejo inmune):**

Las reacciones de complejo inmunológico tóxico, ocurren cuando complejos antígeno-anticuerpo se depositan en células de tejido blanco, provocando la activación del sistema del complemento y como consecuencia se produce daño tisular mediante la liberación de enzimas lisosomales.

### **LAS REACCIONES DE TIPO 4 (Mediadas por células):**

Resultan de una interacción directa entre un medicamento y los linfocitos sensibilizados produciendo la liberación de linfocinas.

Plutarco Naranjo agrupa las reacciones adversas tomando en cuenta su naturaleza y su mecanismo de producción, en las siguientes categorías<sup>7</sup>:

#### **1.-REACCIONES DE TIPO TÓXICO**

- 1.- Reacciones por intoxicación**
- 2.- Reacciones idiosincráticas**

En este grupo se engloban todas aquellas reacciones dependientes, por una parte, de la acción de altas dosis de un fármaco y por otra, de las variaciones cuantitativas de la capacidad de reaccionar de los individuos. Esta variabilidad puede deberse a muchas causas. Unas son adquiridas y por consiguiente pueden ser ocasionales y temporales, otras son de carácter permanente por alteraciones congénitas, por carácter racial o por la presencia de genes atípicos.

## II.-EFECTOS COLATERALES O SECUNDARIOS

- 1.- Un mismo efecto producido por distintos fármacos
- 2.- Efectos producidos por un mismo grupo farmacodinámico

Este grupo es muy rico en reacciones, abarca todas aquellas dependientes de las propiedades farmacodinámicas de los fármacos, y que, a veces, no están directamente relacionadas con sus propiedades terapéuticas.

## III.-REACCIONES POR DISTORSIÓN DEL METABOLISMO NORMAL

- 1.- Por alteraciones enzimáticas
- 2.- Por deficiencias inducidas

Este grupo corresponde a ciertas reacciones inesperadas con trastornos en apariencia no vinculados a la acción de los fármacos, y que se producen secundariamente a una modificación o distorsión del metabolismo normal inducido por el fármaco.

#### IV.-REACCIONES POR ACOSTUMBRAMIENTO

- 1.-Hábito (dependencia psíquica)
- 2.-Adicto (dependencia física)

En este grupo las reacciones dependen del acostumbramiento y el desarrollo de dependencia, sea de carácter psíquico o de carácter físico.

#### V.-REACCIONES POR SENSIBILIZACIÓN

- 1.-Reacciones alérgicas:
  - a).-reacciones de tipo inmediato
  - b).-reacciones de tipo tardío
- 2.-Reacciones anafilácticas
- 3.-Trastornos alérgicos por liberación de histamina

Este grupo está constituido por los trastornos dependientes de variaciones cualitativas de la capacidad de reaccionar de los individuos. Es el tipo de reacción inesperada. Está condicionada a la sensibilización previa. Es la reacción violenta y a veces fatal, que desconcierta al médico. Una vez que se produjo la primera reacción alérgica, las subsiguientes son previsibles y deben evitarse.

#### **VI.-REACCIONES FOTOINDUCIDAS**

- 1.-Fenómenos fototóxicos
- 2.-Fotosensibilización

Por sus características, se ha colocado en un grupo aparte a las reacciones fotoinducidas. Tienen en común el que la luz, directa o indirectamente condiciona la producción de la reacción adversa. Por su naturaleza, en cambio, unas son alérgicas y otras de tipo tóxico.

#### **VII.-REACCIONES TERATÓGENAS Y EMBRIOTÓXICAS**

- 1.-Efectos teratogénos
- 2.-Toxicidad embriotrópica
- 3.-Toxicidad neonatal

#### 4.-Toxicidad selectiva en el recién nacido

Incluye fármacos que al administrarse a la madre embarazada o al recién nacido, pueden provocar una variedad de reacciones adversas como las alteraciones teratógenas.<sup>7</sup>

El doctor Rawlins (británico), diferencia dos tipos de reacciones<sup>4,6</sup>:

**PREDECIBLES:** Tipo A son las reacciones derivadas de una respuesta aumentada, pero cualitativamente normal, esperable o previsible. Su incidencia es mayor si las dosis administradas son elevadas y en ciertos subgrupos de población. En general no son clínicamente graves y producen una mortalidad bastante baja. Puesto que se trata de reacciones habituales y esperadas, normalmente se identifican antes de la comercialización del fármaco.

**IMPREDECIBLES:** Tipo B son aquellas que no guardan relación con la dosis administrada, y cuya aparición en relación con el momento de la exposición al medicamento es variable. No mejoran al reducir la dosis. Son clínicamente graves , producen una mortalidad alta y se deben a una hipersensibilidad o mecanismo idiosincrático..

Las de tipo A son reacciones tres veces más frecuentes que las de tipo B.

Algunos autores añaden dos tipos más de reacciones adversas<sup>6</sup>:

-**Efectos indeseables** asociados a tratamientos prolongados con un medicamento.

-**Efectos retardados**: teratogénesis y carcinogénesis.

#### 4.1.4. Frecuencia de las reacciones adversas

Las reacciones adversas representan un 0.3 -3 % de los ingresos médicos y pediátricos en un hospital general, pues la mayoría de las diferentes estadísticas aportan cifras muy dispares. Al menos un 5% de pacientes hospitalizados desarrollan alguna reacción adversa por medicamentos, e incluso fallecen por esta causa (0.01%).<sup>6,43</sup>

Las reacciones adversas son menos frecuentes en niños que en adultos, si bien algunas de sus manifestaciones pueden plantear problemas de diagnóstico diferencial con ciertos cuadros clínicos frecuentes en la primera infancia; además, la piel del niño se muestra más permeable que la del adulto tras la aplicación de medicamentos, y con algunos de éstos puede producirse una absorción importante capaz de producir manifestaciones sistémicas.<sup>9</sup>

En la tercera edad, hasta un 75% de personas hacen uso habitual de uno o varios medicamentos, algunos de los cuales, por su menor metabolización en el parénquima hepático junto a una disminución de la filtración glomerular, contribuyen a una mayor incidencia de reacciones adversas en esta fase de la vida.

En ocasiones, las fuentes de exposición a los medicamentos pueden ser inaparentes (cosméticos, pequeños residuos de hormonas y antibióticos presentes en alimentos); asimismo, las reacciones adversas pueden tener su origen en algunos aditivos de los fármacos (lactosa, colorantes, antioxidantes, etc.) y no en sus principios activos.<sup>6</sup>

A primera vista, una afirmación sobre la incidencia de efectos secundarios puede constituir una información valiosa para evaluar la relación riesgo/beneficio de diversos fármacos. Sin embargo, existen dificultades prácticas para obtener esta información, especialmente cuando proviene de la comunicación espontánea de las reacciones adversas, en las que no se conoce con exactitud ni el numerador, ni el denominador. Aunque estos informes son de gran utilidad para generar señales de alarma, un número considerable de reacciones adversas quedan sin notificar, dependiendo del fármaco, de la intensidad, de la gravedad, del tipo, que se trate de una reacción única, del tiempo que lleve el fármaco en el mercado, de la publicidad asociada y muchos otros factores.<sup>4</sup>

Es posible realizar un cálculo total del número de pacientes tratados, aunque probablemente no con una exactitud total, ya que es necesario confiar en los datos de ventas mundiales más que en el número de prescripciones, o en datos seleccionados procedentes de organismos tales como



Estadística Médica Internacional (International Medical Statistics -IMS-), que pueden no reflejar la realidad.<sup>4</sup>

#### **4.1.5. Predisposición a las reacciones adversas**

Existe una relación directa entre la cantidad de fármacos administrados y la incidencia de reacciones; es como si los pacientes que han sufrido una reacción adversa estuviesen predispuestos a sufrir una segunda y una tercera reacción.<sup>5,8</sup>

Los factores fisiológicos en la salud y en la enfermedad influyen sobre los efectos (beneficiosos y adversos) de los fármacos. La respuesta ante muchas clases de fármacos es distinta en pacientes pediátricos y geriátricos, en comparación con el adulto usual. Se ha comprobado que en muchas series de pacientes la incidencia de toxicidad por los fármacos predomina en los muy jóvenes y en los muy viejos. Muchas veces se puede apelar a principios farmacocinéticos para explicar las diferencias en el metabolismo y la excreción de los fármacos, en relación con la edad.<sup>5,8</sup> Los factores que predisponen a la aparición de las reacciones adversas se encuentran en el cuadro No. 1.

En efecto, sobre la absorción, la distribución, el metabolismo y la excreción de los fármacos influyen el peso corporal, el sexo y las características raciales y genéticas.<sup>5</sup>

Los estados patológicos modifican la respuesta a los fármacos. La ausencia o deficiencia hereditaria de determinados sistemas enzimáticos específicos, que se pone de manifiesto por la exposición a los fármacos, puede hacer que estos surtan efectos disminuidos o exagerados.<sup>3</sup>

La farmacogenética es la disciplina que estudia las variaciones hereditarias en el manejo corporal de los fármacos y sus respuestas.<sup>5</sup>

## CUADRO No. 1

### FACTORES QUE PREDISPONEN A LA APARICIÓN DE REACCIONES ADVERSAS<sup>1,2</sup>

#### 1.- POR PARTE DEL FÁRMACO

##### Características químicas

- Grado de polaridad
- Propiedades ácidas y básicas
- Absorción de luz ultravioleta
- Semeljanzas químicas
- Degradación del medicamento
- Pureza del fármaco

##### Características farmacológicas

- Inequivalencia terapéutica
- Vía de administración del fármaco
- Número de fármacos administrados
- Dosis y duración del tratamiento
- Suministro de los efectos farmacológicos
- Combinación de fármacos con coadyuvantes
- Como de un producto

#### 2.- POR PARTE DEL PACIENTE

##### Edad

- Niños
- Anzianos

##### Peso y composición corporales

##### Sexo

##### Grupo sanguíneo

##### Raza y herencia (farmacogenética)

##### Temperamento

##### Color de la piel

##### Medio ambiente y dieta

##### \*Diatesis alérgica

##### Enfermedad coexistente

- Enfermedades que obligan a la administración de múltiples fármacos
- Enfermedades que afectan los órganos de absorción, metabolismo o excreción
- Agravamiento de una enfermedad manifiesta o latente
- Reacciones adversas en sujetos con infecciones

##### Embarazo

##### Lactancia

##### Errores del paciente

- No ingerir el fármaco tal como lo ordeno el médico
- Falta de cumplimiento por parte del paciente
- Consecuencias del incumplimiento
- Automedicación

##### Variaciones fisiológicas

##### Estado de la microflora del huésped

<sup>1</sup>Diatesis: Predisposición constitucional o hereditaria a alguna enfermedad o anomalía mental

#### 4.1.6. Reacciones adversas generales:

##### *Reacciones dermatológicas:*

La piel se ve afectada por las reacciones farmacológicas. Si bien todos los medicamentos pueden causar alteraciones dermatológicas, en algunos pacientes ciertos agentes lo hacen con más frecuencia que otros, por ejemplo : penicilina, sulfonamidas, bromuros, yoduros, arsénico, oro, quinina, tiacidas y antipalúdicos.<sup>44,5</sup>

A medida que se introduzcan nuevos fármacos en clínica médica, la lista de los que son capaces de producir reacciones adversas dermatológicas irá en aumento. La mayoría de las reacciones adversas dermatológicas de los fármacos no son bien definidas ni peligrosas. Se desconocen los mecanismos de la mayor parte de las reacciones cutáneas. Por lo general, la administración de un medicamento se suspende cuando el paciente presenta una reacción cutánea, aunque esta sea mínima.<sup>44</sup>

##### *Hepatotoxicidad (daño hepático):*

1.- Obstrucción biliar: algunos medicamentos afectan el endotelio de los conductos biliares originando un estrechamiento. La bilis fluye entonces hacia la circulación dando al paciente un tinte icterico.<sup>44</sup>

2.- Necrosis hepática: daño de los hepatocitos inducido por fármacos y caracterizado por náuseas, vómitos y dolor abdominal seguido de ictericia<sup>44</sup>, entre los fármacos que provocan este daño se encuentra el acetaminofén, isoniacida, metildopa, tetraciclina, ác. valproico.<sup>8</sup>

***Nefrotoxicidad (daño renal):***

Se trata de una degeneración de los túbulos renales inducida por medicamentos, que puede interferir con la excreción de los fármacos. Esto da como resultado un aumento en la toxicidad del fármaco.<sup>44</sup>

***Ototoxicidad (daño a los oídos):***

Da como resultado daño en la porción vestibular, auditiva o en ambas, del octavo par craneal.<sup>44</sup>

1.- Daño vestibular: se caracteriza por vértigo (sensación de dar vueltas y caída) y nistagmus (movimiento de los globos oculares en forma rápida, rítmica y de un lado hacia otro).<sup>44</sup>

2.- Daño auditivo: caracterizado por tinnitus (oír campanitas o zumbidos) y pérdida progresiva de la audición. Este efecto puede ser producido por algunos antibióticos (danamicina, neomicina) y diuréticos (ácido etacrínico, furosemida).<sup>44</sup>

***Toxicidad en el sistema nervioso central:***

Esta toxicidad se caracteriza por alteraciones de la coordinación motora, pérdida de la percepción de distancias, depresión de la conciencia o sobreestimulación, incluyendo convulsiones. La depresión se presenta más frecuentemente con barbitúricos, otros sedantes hipnóticos, ansiolíticos y alcohol<sup>44</sup>, la confusión y la demencia se presentan con antihipertensivos, antipsicóticos, cimetidina, digoxina, diuréticos, sedantes, esteroides, hormonas esteroideas.<sup>8</sup>

Algunos medicamentos también interfieren con la transmisión del impulso nervioso en la unión neuromuscular, lo cual da como resultado debilidad muscular.<sup>44</sup>

***Alteraciones gastrointestinales:***

Los medicamentos pueden ocasionar náuseas, diarrea y vómitos por irritación local o como efecto sistémico.<sup>3,44</sup>

***\*\* Discrasias sanguíneas:***

La médula ósea de algunos pacientes es particularmente sensible a los fármacos: esto puede traducirse en una producción insuficiente de plaquetas, glóbulos blancos o rojos.<sup>44</sup>

---

\*\* Discrasia sanguínea : Estado normal y alterado de la sangre.

En principio todos los fármacos pueden provocar discrasias sanguíneas en pacientes susceptibles, pero algunos como los antineoplásicos, ciertos antibióticos (incluyendo el cloramfenicol) y la fenilbutazona, son responsables más frecuentemente de esta complicación.

Agranulocitosis es provocada por alopurinol, anticonvulsivantes, antihistamínicos, anti tiroideos, captopril, clorapropamida, antiinflamatorios no esteroideos (AINE) procainamida, y psicoterapéuticos.<sup>8</sup>

#### **4.1.7. Prevención de las reacciones adversas.**

La Organización Mundial de la Salud ha recomendado la creación de sistemas nacionales e internacionales para la identificación de las reacciones adversas, de manera de poder prevenirlas. Con la denominación de vigilancia farmacológica o farmacovigilancia se entiende la notificación, registro y evaluación sistemática de las reacciones adversas de los medicamentos, sobre todo para deducir la existencia de una relación de causalidad entre los fármacos y dichas reacciones adversas.<sup>3</sup>

La farmacovigilancia corresponde a la fase IV de estudio de los medicamentos. Los objetivos principales de la vigilancia farmacológica son: descubrir lo antes posible las reacciones adversas graves e inesperadas de los fármacos nuevos y determinar la frecuencia de las reacciones adversas de los medicamentos, con el objeto de evaluar el significado clínico de las mismas. En todos los

casos, la farmacovigilancia es un factor importante para establecer la relación beneficio/riesgo de los medicamentos.<sup>3</sup>

Existen varias clases de centros de farmacovigilancia<sup>3</sup>:

1.- Centro Nacional de Vigilancia Farmacológica

2.- Centros de referencia, hospitales u otros grupos de hospitales que se ocupan de la vigilancia farmacológica en colaboración con un centro nacional .

3.- Centros especiales, hospitales u otros establecimientos médicos capaces de encargarse de la vigilancia farmacológica en países que carecen de centro nacional.

4.- Centro de Vigilancia Farmacológica de la OMS, establecido en Ginebra y encargado de organizar el sistema internacional de farmacovigilancia en colaboración con los centros nacionales.

5.- Comisión Nacional de Vigilancia Farmacológica, informa y aconseja a las autoridades sanitarias respecto de las reacciones adversas a los medicamentos y también asesora al Centro Nacional de Vigilancia Farmacológica.



Las fuentes de información para realizar la farmacovigilancia son<sup>3,6</sup>:

- 1).- notificación individual , espontánea o voluntaria.
- 2).- vigilancia completa o vigilancia intensiva en los hospitales.
- 3).- vigilancia farmacológica de la población.
- 4).- registro de las reacciones adversas.

#### 4.1.8. Evaluación de las reacciones adversas.

Métodos de farmacovigilancia. La parte más importante de la vigilancia farmacológica es la evaluación de los datos con el fin de establecer la relación de causalidad entre los fármacos y las reacciones adversas que se han registrado. En ese sentido, los métodos de vigilancia farmacológica son de dos tipos : a) descriptivos -notificación individual-; b) analíticos -vigilancia intensiva en los hospitales- y tienden a comprobar hipótesis<sup>3</sup>.

Las reacciones adversas de los medicamentos constituyen un grave problema sanitario, como lo ha establecido la OMS, ya que puede implicar la muerte del paciente<sup>3</sup>.

Los estudios farmacológicos que puedan hacerse de un nuevo producto antes del lanzamiento en el mercado -fase I, II y III- no dan certeza de la índole de sus reacciones adversas; ya que sólo el consumidor podrá darla, por lo que es fundamental entonces su vigilancia -fase IV-<sup>3</sup>.

## 4.2. AMIBIASIS

### 4.2.1. Definición

La amibiasis es una enfermedad aguda y crónica causada por *Entamoeba histolytica*. Aunque pueden enfermar muchos órganos, la localización usual de la enfermedad inicial es el colon; las manifestaciones varían desde el estado de portador asintomático a la enfermedad fulminante con inflamación y ulceración de la mucosa, en ocasiones con resultado mortal. La enfermedad se encuentra en todo el mundo, pero su frecuencia general es mayor en los trópicos y áreas en que las condiciones de sanidad y vida son subóptimas.<sup>12</sup>

### 4.2.2. Agente etiológico

Hay varias especies de amibas que habitan el tubo intestinal del hombre, sin embargo *E. histolytica* es al parecer la única variedad patógena para el hombre.<sup>9</sup>

*E. histolytica* es un protozoario parásito eucariótico primitivo, a pesar de que presenta una gran simplicidad morfológica, es capaz de colonizar el intestino grueso de un alto porcentaje de la población mundial e invadir y destruir la mucosa intestinal y eventualmente cualquier tejido del organismo.<sup>16</sup> Habita en el colon, en su luz y en el espesor de sus paredes; es más abundante en el

ciego, en la porción inicial del colon ascendente y en el recto. Se le puede encontrar en las demás porciones del intestino grueso, en la terminal del ileon y en el apéndice. También puede vivir y multiplicarse en los tejidos del hígado, de los pulmones, del cerebro, de otras vísceras y en la piel. Esta especie ha sido hallada algunas veces parasitando a simios, ratas, perros y cerdos. Experimentalmente se puede infectar con ella a varios mamíferos.<sup>14</sup>

#### 4.2.3 Importancia

La amibiasis es la infección en el humano producida por el protozoo parásito *Entamoeba histolytica*. Existen seis especies de amibas que tienen por hábitat el colon, pero sólo *Entamoeba histolytica* es la única patógena<sup>9</sup>.

La *Entamoeba histolytica* es el protozoo responsable de la amibiasis en humano. Esta infecta del 10% al 20% de la población mundial, causando 50 millones de casos de disentería o hígado graso y la muerte de 100,000 humanos por año. Alcanza prevalencias de 30 y 50% en regiones tropicales<sup>13,42</sup>. En México se encuentra entre las 20 principales causas de morbilidad<sup>28</sup>.

A nivel mundial, la amibiasis ocupa el tercer lugar como causa de muerte por parasitosis. En los países en desarrollo en los que la amibiasis es un problema de salud pública, es probable que la pobreza, la ignorancia, las malas condiciones sanitarias y la presencia de cepas altamente virulentas determinan la alta frecuencia y la gravedad de la infección.<sup>16</sup>

Desafortunadamente, con excepción de la malaria, no existen vacunas contra estos parásitos y los países pobres no cuentan con los recursos necesarios para financiar programas de medicina preventiva prolongados. Por lo que la amibiasis es controlada principalmente por un tratamiento con fármacos como el metronidazol, emetina y cloroquina.<sup>13</sup>

Algunos otros fármacos, como el iodoquinol y diloxanida son utilizados en los individuos sintomáticos<sup>13</sup>.

#### 4.2.4. Clasificación

Existen dos variedades clínicas <sup>9</sup>:

1.- Enfermedad evidente (sintomática)

2.- Portadores sanos

La enfermedad amibiana puede localizarse en la luz intestinal colónica, invadir la pared por acción histolítica o transportarse a otros órganos, por vía sanguínea o por vía linfática, constituyendo lo que se conoce como amibiasis invasora. De esta manera, otra clasificación considera la amibiasis con los siguientes grupos:

a).- Amibiasis intestinal

**b).- Amibiasis intestinal invasora**

**c).- Amibiasis invasora a otros órganos**

Hepática

Cutánea

Ginecológica

Cerebral

Pulmonar

**La amibiasis intestinal, también se la ha clasificado en :**

**a).- Amibiasis intestinal aguda**

Forma diarreica

Forma disentérica

**b).- Amibiasis intestinal crónica**

**c).- Amibiasis invasora intestinal grave**

Ameboma

Colitis amibiana fulminante

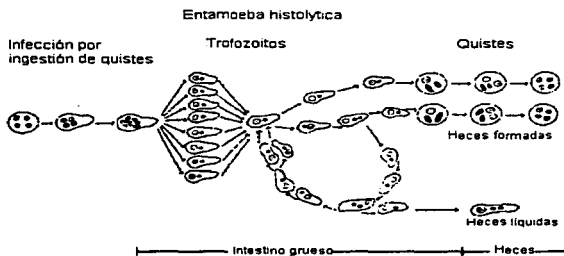
Apendicitis amibiana

#### 4.2.5. Ciclo vital

*Entamoeba histolytica* pasa por las siguientes fases en su ciclo vital: trofozoito, prequiste, quiste, metaquiste y trofozoito metaquístico.<sup>17</sup>

**TROFOZOITO:** Los trofozoitos vivos tienen dimensiones variables que fluctúan entre 10 y 60 $\mu$  de diámetro, según el grado de actividad y otras condiciones. La locomoción del trofozoito activo es bastante notable, tal como se ve en los microorganismos obtenidos de heces disentéricas o diarreicas recientes o en amibas cultivadas

**ENQUISTAMIENTO:** En condiciones naturales no se produce enquistamiento en los tejidos. En la luz del colon, en condiciones aún no conocidas, el trofozoito amibiano elimina alimentos no digeridos y se condensa en una masa esférica que constituye el prequiste. Secreta luego una cubierta resistente y relativamente delgada y queda formado el quiste inmaduro. En este estadio se forma un solo núcleo similar al del trofozoito y el prequiste. Los quistes de *Entamoeba histolytica* maduran por dos divisiones mitóticas consecutivas del núcleo que dan lugar a 4 núcleos, cada uno de los cuales es una réplica en miniatura del núcleo original al iniciarse el enquistamiento. En raras ocasiones se encuentran hasta 8 núcleos en los quistes maduros (fig. 1).



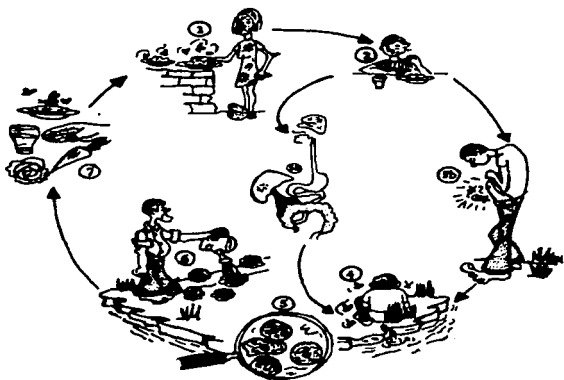
**FIG. 1 CICLO DE DIVISIÓN DE LA *E. histolytica***<sup>17</sup>

Los trofozoitos no se enquistan en las heces, una vez evacuadas. En las materias fecales semiformadas se encuentran a veces prequistes uninucleados, binucleados y en ocasiones con 3 ó 4 núcleos, mientras que en las heces formadas lo normal es encontrar los quistes maduros (4 núcleos). Los quistes con 1,2 y 4 núcleos son infecciosos y constituyen la forma infectante para el siguiente huésped.



**DESENQUISTAMIENTO:** Una vez que el quiste llega a la boca y es deglutido, pasa por el estómago y penetra en el intestino delgado. No experimenta cambios aparentes mientras se encuentra en lugares en donde la reacción del medio es ácida, pero, tan pronto como el medio en el que se encuentra es neutro o ligeramente alcalino, adquiere una gran actividad, que, combinada posiblemente con el efecto de los jugos digestivos, debilita la pared del quiste y permite que la amiba multinucleada (metaquiste) emerja del quiste. De forma casi inmediata, el citoplasma se divide en tantas partes como núcleos tiene, de forma que cada núcleo pasa a ser el centro de un pequeño trofozoito metaquístico. Así del proceso de desenquistamiento derivan 4 pequeñas amibas.

**COLONIZACIÓN:** Los trofozoitos metaquísticos de *E. histolytica* no colonizan el intestino delgado, sino que son transportados con el contenido fecal hacia el ciego, donde pueden llegar a establecerse si su número es suficiente para que uno o varios de ellos entren en contacto con la mucosa o se alojen en las criptas glandulares. Una vez que las pequeñas amibas comienzan a alimentarse y crecer, se transforman en trofozoitos normales y se completa el ciclo del desarrollo.<sup>19, 18</sup>(fig.2)



**FIG.2. CICLO DE VIDA *E. histolytica*.** 1.Los portadores de quistes son la fuente de infección. 2.Los quistes entran por vía oral. 3.La amibiasis puede ser intestinal o extraintestinal. 4.El paciente con amibiasis intestinal elimina los parásitos con las materias fecales. 5.Los trofozoitos son destruidos en el medio ambiente, mientras que los quistes son más resistentes. 6-7.Los quistes contaminan agua, hortalizas, manos, moscas, etc.<sup>19</sup>

## 4.3. FARMACOLOGÍA DE LOS AMIBICIDAS

### 4.3.1. Definición de amibicida

Existe una serie de medicamentos capaces de producir la curación de la mayor parte de las formas de amibiasis, sobre todo las agudas, y se puede afirmar que la mayoría de los casos en que fracasa el tratamiento se debe a error de diagnóstico o mal empleo de los fármacos.<sup>3</sup>

Son fármacos amibicidas los que destruyen a las amibas en su forma de trofozoito y de quiste.

Para que se desarrolle bien la *Entamoeba histolytica* es necesaria la presencia de bacterias intestinales; los fármacos que actúan en forma indirecta sobre estas bacterias son eficaces en la amibiasis intestinal; tal es el caso de los antibióticos, tetraciclinas y paromomicina, que además poseen algunos fármacos propiamente dichos como el metronidazol y las hidroxiquinolinas halogenadas<sup>3</sup>.

### 4.3.2. Clasificación de los amibicidas:

Todos los fármacos amibicidas actúan contra los trofozoitos de *E. histolytica* y son capaces de penetrar la pared de los quistes. En los casos de amibiasis intestinal, en los cuales existen quistes, la desaparición de estos después de un tratamiento, se debe al ataque de los fármacos sobre las

formas trofozoíticas que los originan y no por acción directa contra ellos. Todos los casos de amibiasis se deben tratar , incluyendo los asintomáticos. En este último grupo hay dos razones que o justifican; eliminar los parásitos de la luz intestinal para cortar la cadena de transmisión y evitar que en algún momento tengan amibiasis invasiva.<sup>19</sup>

La pauta a seguir en todo tratamiento debe basarse en la localización de los trofozoitos. Estos pueden estar en la luz del intestino, en la pared del colon o en los tejidos extraintestinales. Según lo anterior se debe seleccionar el fármaco y su vía de administración. Los fármacos amibicidas se dividen en tres grupos de acuerdo a su mecanismo de acción y a la vía de administración.<sup>19</sup>

#### **1.- Amibicidas orales de acción luminal**

Dentro de este grupo tenemos los siguientes fármacos:<sup>19</sup>

a).- **Dicloroacetamidas o amidas, siendo las más comunes:**

- Etofamida
- Teclozán
- Clefamida
- Furoato de difoxanida

b).- Quinoleinas halogenadas, siendo las más comunes:

- Diyodohidroquin
- Quinfamida

## 2.- Amibicidas nitroimidazólicos de acción tisular

Son los derivados del 5 nitroimidazol, los que constituyen el mayor avance en la terapéutica antiambiana en los últimos años. Con ellos debe tenerse en cuenta su mecanismo de acción, para utilizarlos racionalmente y evitar su uso en casos innecesarios. Son efectivos casi exclusivamente en los tejidos, pues se absorben muy bien y rápidamente pasan al intestino delgado, por esta razón se indican en casos de amibiasis intestinal sintomática, en los cuales las amibas han invadido la pared del colon y también en todos los casos de amibiasis extraintestinal; no se recomiendan en amibiasis asintomática o no invasiva y son insuficientes como tratamiento único en la amibiasis aguda y crónica. En estas debe complementarse el tratamiento con los amibicidas orales de acción luminal, para destruir los trofozoitos en la luz intestinal y así evitar recaídas. Además de su acción antiparasitaria se ha encontrado que los nitroimidazoles tienen acción contra microorganismos anaeróbicos.<sup>19</sup>

Existe un buen número de derivados 5-nitroimidazólicos, pero los más utilizados son metronidazol, tinidazol, nimorazol, ornidazol y secnidazol.

**SECNIDAZOL:** Amibicida de larga vida media tisular. Dos veces más activo que el metronidazol. Se presenta en comprimidos de 500 mg para adultos y 250 mg para niños , para administrar una dosis total de 2 g en los primeros y de 30 mg/kg para los niños en dosis única. Además de la buena acción tisular, es efectivo en el 56% de portadores de quistes, lo cual indica que también tiene acción luminal.<sup>19</sup>

### **3.- Dehidroemetina. Compuesto de acción tisular.**

Es un compuesto sintético de acción tisular administrado por vía muscular a la dosis de 1.5 mg/kg/día por 6 a 10 días. En la actualidad se prefieren los imidazoles, por su menor toxicidad. La dihidroemetina puede causar efectos tóxicos cardiovasculares y neuromusculares<sup>19</sup>.

### 4.3.3. Farmacología del secnidazol

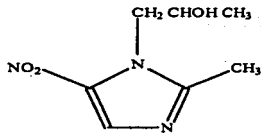
Debido a que en este trabajo sólo se trabajó con un solo amibicida (SECNIDAZOL), a continuación se describen sus características farmacológicas.

#### 4.3.3.1. Origen y química

El secnidazol es un derivado de los 5-nitroimidazoles cuyo nombre químico es (hidroxi-2-propil)-1-metil-2-nitro-5-imidazol<sup>29</sup>.

El secnidazol, presenta en la posición 1 un grupo hidroxipropilo ( $-\text{CH}_2\text{CHOHCH}_3$ ). Parece ser que este grupo, en la posición número 1, es el que determina las propiedades farmacocinéticas de los nitroimidazoles, mientras que su actividad antimicrobiana puede ser atribuida al grupo nitrogenado que habitualmente aparece en las posiciones 2 y 5<sup>30</sup>.

Su fórmula estructural es la siguiente:



Su fórmula molecular es: C<sub>7</sub> H<sub>11</sub> N<sub>3</sub> O<sub>3</sub><sup>34</sup>.

Su peso molecular es: 185.2 g/mol<sup>31</sup>.

El secnidazol es un polvo cristalino, blanco amarillento, sin olor o muy débil y muy higroscópico, tiene la característica de ser muy soluble en metanol y dimetilformamida; fácilmente soluble en etanol y acetona, soluble en agua y cloroformo y poco soluble en benceno y éter<sup>29</sup>.

#### 4.3.3.2. Farmacocinética

El secnidazol como los demás nitroimidazoles se absorbe bien cuando se administra por vía oral, pero no lo hace en forma rápida, lo cual le permite actuar en la luz intestinal, siendo además



**muy importante su acción tisular frente a amibas, en la pared intestinal y en los demás sitios del organismo en donde se presente amibiasis sistémica<sup>29</sup>.**

**La rápida absorción del secnidazol, que comparte unos altos niveles plasmáticos, junto con la hipervascularización existente en la proximidad de las colitis amibianas y de los abscesos amibianos hepáticos, son factores que contribuyen al éxito de la dosis única diaria, la cual supone ventajas obvias para todo tipo de pacientes<sup>29</sup>.**

**El secnidazol, es un fármaco que se une poco a las proteínas plasmáticas (menos del 15% del total de la concentración plasmática).**

**Su distribución por todo el organismo es rápida y alcanza altas concentraciones en los órganos y tejidos. El tiempo medio de distribución del secnidazol se aproxima a los 10 minutos<sup>32,34</sup>.**

**Después de la administración de secnidazol, la concentración sérica máxima aparece cerca de las tres horas posteriores a la administración. EL secnidazol, tiene una vida media de 20 horas.<sup>47</sup>**

**El secnidazol es metabolizado posiblemente a nivel hepático<sup>34</sup>.**

**La biotransformación es relativamente simple y comprende dos procesos: oxidación (productos como los derivados hidroxilos y ácidos) y conjugación. El metabolito principal está identificado**

como un derivado hidroximetilo en la posición 2. Los conjugados son glucuroconjugados (en el hombre y el perro) y sulfuroconjugados (en el conejo). En rata no se detectan conjugados en la orina (fig.3).<sup>24</sup>

Después de la administración única de secnidazol, la excreción urinaria global del secnidazol y sus metabolitos se lleva a cabo en 72 horas, después de este tiempo, el 10% de la dosis administrada del fármaco se encuentra en el organismo de la rata, del 16 al 22% de la dosis en el hombre, del 30 al 40% en el perro y casi un 80% en el conejo<sup>29</sup>.

El secnidazol por su perfil farmacocinético es eficaz contra la *Entamoeba histolytica* y en particular su larga vida media de eliminación (aproximadamente 20 horas), permite una terapéutica efectiva mediante una dosis única diaria, así mismo, es un tratamiento seguro y tolerado.<sup>35,36,30</sup>

El aclaramiento total del organismo se aproxima a los 25 ml/min. La excreción urinaria de secnidazol no modificado supone el 50% de la dosis<sup>32</sup>.



#### **4.3.3.3 Farmacodinámia (mecanismo de acción y acción farmacológica)**

El mecanismo de acción parasiticida de los nitroimidazoles entre los que se encuentra el secnidazol, no ha sido dilucidado completamente. Se cree que el secnidazol penetra dentro de los microorganismos mediante un proceso de difusión simple. A nivel intracelular, es reducido por la ferredoxina de bajo potencial oxidorreducción lo cual incrementa el gradiente de concentración transmembranal y esto conlleva a su vez a una mayor captación. Producen la degradación del DNA e inhiben la síntesis de ácidos nucleicos, siendo igualmente efectivo contra células que están en fase de división o que no lo estén<sup>29,32</sup>.

En lo referente a su acción farmacológica, el secnidazol y los nitroimidazoles en general, no provocan una respuesta orgánica importante evidenciable, aún con tratamientos prolongados en los animales de experimentación. Los nitroimidazoles muestran una actividad antiprotozoaria<sup>30</sup>.

El secnidazol no ejerce acción significativa sobre la presión arterial y la frecuencia cardíaca. EL secnidazol, en perros, no ejerce acción neta sobre los sistemas cardiovascular, respiratorio y neurovegetativo<sup>29</sup>.

La administración de secnidazol es altamente efectiva en el tratamiento de la amibiasis intestinal aguda y en los portadores de trofozoitos y quistes amibianos<sup>29,33</sup>.

#### **4.3.3.4. Interacciones medicamentosas**

El secnidazol potencia los efectos de los anticoagulantes, no debe administrarse concomitantemente con disulfiram; cuando se administra fenobarbital conjuntamente con el secnidazol aparentemente disminuye la vida media sérica del secnidazol; en asociación con litio puede ocasionar toxicidad por litio. La ingestión de bebidas alcohólicas, debe evitarse ya que ocasiona intolerancia, semejante a la producida por el disulfiram<sup>32</sup>.

#### **4.3.3.5. Alteraciones de pruebas de laboratorio**

El secnidazol puede interferir con las determinaciones de enzimas hepáticas en sangre, produciendo resultados anormalmente bajos. También puede interferir con el método de la hexokinasa para medir concentraciones sanguíneas de glucosa. Se ha reportado que interfiere con los ensayos para concentraciones en sangre de procaínamida.<sup>32</sup>

#### **4.3.3.6. Reacciones adversas**

Al igual que el metronidazol, el secnidazol es un fármaco que produce trastornos secundarios de tipo gastrointestinal, nervioso, cutáneos.

EL secnidazol es bien tolerado en general, pero puede producir <sup>29,30</sup>:

- a) vómito
- b) náuseas
- c) ardor epigástrico
- d) mal sabor de boca

#### **4.3.3.7 Contraindicaciones**

Al igual que otros derivados imidazólicos está contraindicado en<sup>32</sup>:

- 1.-discrasias sanguíneas
- 2.- enfermedades del S.N.C.
- 3.-primer trimestre del embarazo
- 4.- lactancia

#### **4.3.3.8. Indicaciones y dosificación**

##### **SECNIDAL<sup>32</sup>:**

**Tratamiento en un sólo día de la amebiasis. La dosificación del secnidazol es de 30 mg/kg de peso por día.**

**NIÑOS DE 1 AÑO:** 250 mg de secnidazol en dos tomas de 5 ml cada una, 5 ml de la mezcla de secnidazol contienen el equivalente a 125 mg de secnidazol.

**NIÑOS DE 2 -6 AÑOS:** 500 mg de secnidazol, en dos tomas de 10 ml cada una.

**NIÑOS DE 7-10 AÑOS:** 750 mg de secnidazol, en dos tomas de 15 ml cada una.

**ADULTOS:** 1 solo día de tratamiento; 2 comprimidos por la mañana y 2 por la noche.

#### **4.3.3.9. Preparados**

El secnidazol, se encuentra en dos diferentes presentaciones<sup>29</sup>:

- 1.- caja con 4 comprimidos de 500 mg.
- 2.- frasco con polvo para reconstituir a 30 ml y cuchara dosificadora.

## **5. PARTE EXPERIMENTAL**

### **5.1. MATERIAL**

El requerido para las técnicas realizadas y especificado posteriormente en cada una de éstas.

#### **5.1.1. Material biológico:**

90 ratas Wistar macho de 250 - 300 g.

#### **5.1.2. Fármacos:**

Secnidazol ( Secnidal ) : Comprimidos.



## 5.2. CONDICIONES DEL EXPERIMENTO:

Se formaron 3 lotes, cada uno de 30 ratas. Los lotes se organizaron de la siguiente manera:

LOTE 1: CONTROL (SIN FÁRMACO).

LOTE 2: SECNIDAZOL EN DOSIS DE 30 mg/kg. (Dosis terapéutica)

LOTE 3: SECNIDAZOL EN DOSIS DE 15 mg/kg. (Mitad de la dosis terapéutica)

La distribución por lote fue al azar, se emplearon ratas wistar macho adultos jóvenes de 250 - 300 g. de peso; a las cuales se alimentó con alimento especial para roedores y se les dió de beber agua potable *ad libitum*.

El fármaco se administró por vía oral empleando sondas orales para rata.

## 5.3. DESARROLLO EXPERIMENTAL:

Las ratas participantes se mantuvieron en condiciones de alimentación, agua y limpieza adecuadas durante todo el experimento en el bioterio, con temperatura y luz y humedad controladas; posteriormente se llevó a cabo el pesado, marcado y distribución de las ratas.

**LOTE 1:** Se administraron 0.5 ml de vehículo (agua) a cada rata 2 veces al día. La primera toma fue a las 7:00 h. y la segunda a las 19:00 h. durante 3 días y esto se repitió 5 veces dando un descanso (sin vehículo) entre cada tratamiento de 3 días.

**LOTE 2:** Se administró secnidazol por vía oral con dosis terapéutica de 30 mg/kg de peso, esta dosis se administró 2 veces al día al igual que en el lote anterior ( 7:00 y 19:00 h.), este tratamiento se dió por 3 días y se repitió 5 veces dando un descanso (sin fármaco) entre cada tratamiento de 3 días.

**LOTE 3:** Se manejó en forma similar al lote 2. únicamente que la dosis administrada fué la mitad de la dosis terapéutica , es decir de 15 mg/kg de peso.

Para cada lote el sacrificio se realizó el primer día de descanso, sacrificandose 6 ratas por lote desde el primer tratamiento hasta el quinto.

Se obtuvieron muestras de sangre y tejido hepático para realizar las siguientes determinaciones:

En suero :

- Bilirrubina directa (B.D.)<sup>20</sup>
- Bilirrubina total (B.T.)<sup>20</sup>
- Fosfatasa alcalina (F.A.)<sup>21</sup>
- Gamma glutamil transpeptidasa (GGT)<sup>22</sup>
- Transaminasa glutámico pirúvica (TGP)<sup>23</sup>
- Transaminasa glutámico oxalacética (TGO)<sup>23</sup>

En tejido:

- Lipoperoxidación (Lipo.)<sup>24</sup>
- Glucógeno (Glu.)<sup>23</sup>
- Colágena (Col.)<sup>26</sup>

Estas técnicas se encuentran descritas en su totalidad en el apéndice I.

### **CRONOGRAMA DE ADMINISTRACIÓN**

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>DÍAS DE ADMON. DEL FÁRMACO</b>	<b>DÍAS SIN FÁRMACO</b>
1	1 2 3	* 4 5 6
2	7 8 9	*10 11 12
3	13 14 15	*16 17 18
4	19 20 21	*22 23 24
5	25 26 27	*28 29 30

\*Este día se realizó el sacrificio y toma de muestra

NOTA: Este cronograma se siguió para cada uno de los lotes mencionados en el plan de trabajo (para cada dosis y el control).

## 6. RESULTADOS

Los antecedentes del estudio histológico sobre las reacciones adversas provocadas por Secnidazol en hígado de rata Wistar mostraron los siguientes resultados microscópicos<sup>41</sup>.

En el cuadro No. 2 podemos observar el tipo de lesión que se observó en hígado y la intensidad de la misma.

### CUADRO No. 2.

#### RESULTADOS MICROSCÓPICOS DEL HÍGADO DE RATA.

LESIÓN	FÁRMACO
	<i>SECNIDAZOL</i>
Bordes redondeados	+ +
Áreas ópticamente vacías	+ +
Sinusoides aumentados de tamaño	+ + +
Reducción en el tamaño de los hepatocitos	+ + +
Degeneración de hepatocitos y sustitución de tejido conectivo	+ +
Reacción inflamatoria	+ +

Acotaciones: + + + lesión severa  
+ + lesión moderada  
- lesión leve

Por otra parte en base a estos resultados se realizó una evaluación funcional del hígado mediante determinaciones enzimáticas (F.A., TGP, TGO, GGT), la cantidad presente de colágena y glucógeno, el posible daño membranal mediante la prueba de la lipoperoxidación, así como B.D. y B.T.

Los resultados obtenidos de estas determinaciones se muestran mediante gráficas. El valor graficado equivale a la media de experimentos por duplicado con 6 animales tratados para cada una de las dosis a los diferentes tratamientos.

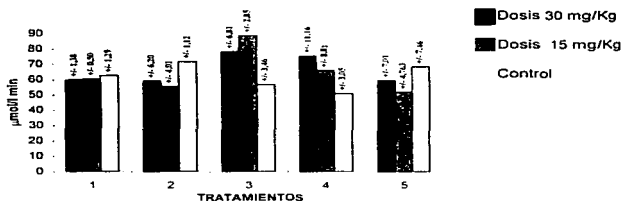
Las gráficas muestran como se ve afectada la actividad de la enzima medida (F.A., TGP, TGO, GGT), la cantidad de bilirrubina directa e indirecta, la cantidad de glucógeno y colágena, así como los resultados de la lipoperoxidación en función de los tratamientos; para las dosis administradas (30 mg/kg y 15 mg/kg) y el control. Con el fin de realizar una comparación entre las dosis y el control y entre los diferentes tratamientos.

Los resultados obtenidos de la determinación de las enzimas hepáticas (F.A., TGP, TGO, GGT) se muestran en las gráficas 1, 2, 3 y 4 respectivamente.

Las gráficas 5 y 6 muestran los resultados obtenidos de la determinación de B.D. y B.I. respectivamente.

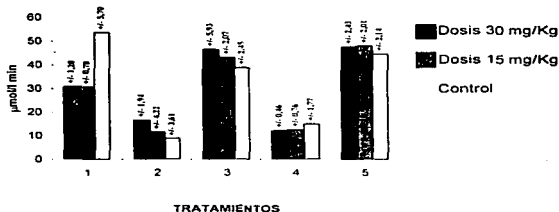
Los resultados de la cantidad presente de colágena y glucógeno se muestran en las gráficas 7 y 8 respectivamente; así como los resultados de la prueba de la lipoperoxidación en la gráfica 9.

### ACTIVIDAD DE LA FOSFATASA ALCALINA

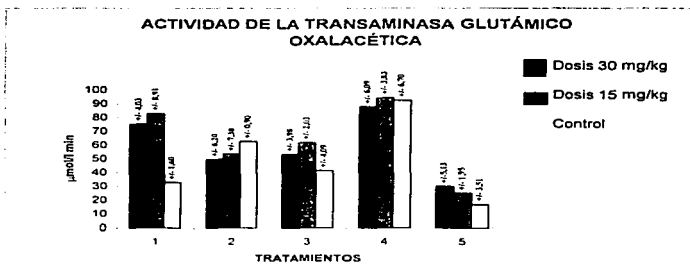


La gráfica No. 1 nos muestra que en la actividad de la F.A. no hay una diferencia significativa entre los tratamientos, en cambio entre las dosis y el control si existe una diferencia notoria en el tercer y cuarto tratamiento.

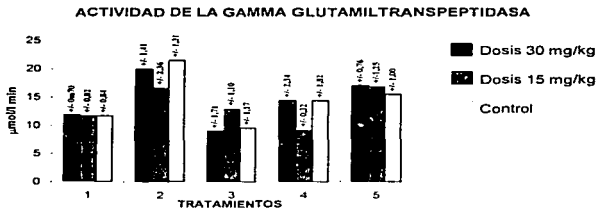
### ACTIVIDAD DE LA TRANSAMINASA GLUTÁMICO PIRÚVICA



Gráfica No.2. Con lo que respecta a la actividad de la TGP esta gráfica muestra que no existe diferencia significativa en cuanto a las dosis comparadas con el control, pero si existen diferencias significativas entre los tratamientos.

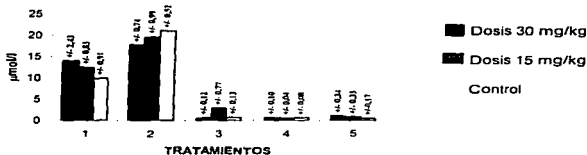


**Gráfica No. 3.** Se observa que la actividad de la enzima TGO difiere significativamente entre los tratamientos pero no así entre las dosis y el control, excepto en el primer tratamiento.



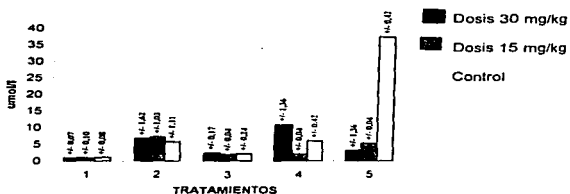
**Gráfica No.4.** Con lo que respecta a la GGT se observa una diferencia significativa entre los tratamientos, y entre las dosis y el control esta diferencia se observa en el 2, 3 y 4 tratamiento.

### CONCENTRACIÓN DE BILIRRUBINA DIRECTA



Gráfica No. 5. En cuanto a la bilirrubina directa se observa un diferencia significativa entre los dos primeros y los tres últimos tratamientos, pero los tres últimos no difieren entre sí.

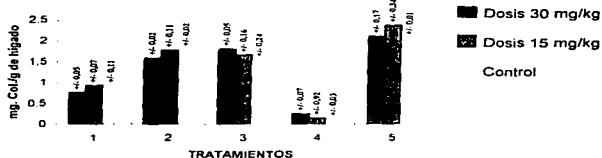
### CONCENTRACIÓN DE BILIRRUBINA INDIRECTA



En la gráfica No. 6 se observa una diferencia significativa entre los tratamientos; en cuanto a las dosis en el último tratamiento varían significativamente con respecto al control.

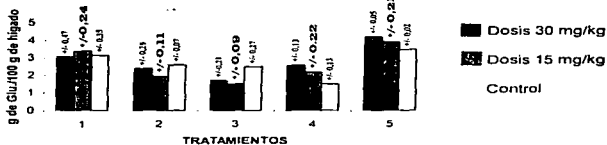


### CANTIDAD DE COLÁGENA PRESENTE EN HÍGADO

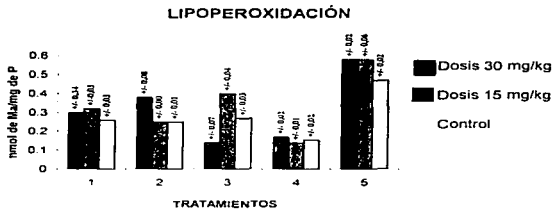


La gráfica No.7 nos muestra que la cantidad de colágena se ve disminuida notoriamente en el cuarto tratamiento comparado con los demás tratamientos y entre los otros tratamientos se puede decir que no es tan notoria esta diferencia.

### CANTIDAD DE GLUCÓGENO PRESENTE EN HÍGADO



En la gráfica No.8 podemos observar que el glucógeno se elevó levemente en el quinto tratamiento comparado con los otros tratamientos.



Con lo que respecta a la gráfica No.9, en la prueba de lipoperoxidación se encontró que en el quinto tratamiento se elevó la cantidad de malonaldehído en comparación con los demás tratamientos, no observándose una diferencia significativa entre las dosis y el control.

## 7. DISCUSIÓN.

Tomando en cuenta los antecedentes sobre reacciones adversas provocadas por el secnidazol a nivel morfológico en el hígado de rata Wistar, en el que se observó una lesión moderada a nivel del hepatocito<sup>41</sup>, se determinaron las siguientes enzimas séricas : F.A., TGP, TGO y GGT que sirven como marcadores de daño hepático y también se determinó la cantidad de glucógeno y colágena además de la lipoperoxidación que indica la existencia de daño a nivel de la membrana del hepatocito, así como B.D. y B.I.

De acuerdo a los resultados obtenidos las actividades de las enzimas F.A., TGP, TGO y GGT no cambiaron notoriamente comparadas con el control en el primer tratamiento , pero se observó una elevación notoria en comparación con el control en el tercer tratamiento y disminuyeron un poco en el quinto tratamiento.

Con lo que respecta a la B.D. y B.I. existen cambios muy notorios en la concentración de estos metabolitos entre los tratamientos, no así entre las dosis.

En el caso del glucógeno y la colágena la concentración se vio aumentada en comparación con el control en el tercer tratamiento y se mantuvo alta en el quinto tratamiento. lo mismo sucedió con la lipoperoxidación únicamente que ésta se elevó notoriamente comparada con el control en el quinto tratamiento.

Para poder realizar una comparación más precisa entre las dosis administradas y el control y entre los tratamientos se realizó un análisis estadístico de Bloques Completamente Aleatorizados y posteriormente la prueba a posteriori para ver la DMSH (apéndice II) del que se obtuvo lo siguiente:

Se encontró que las dosis de secnidazol probadas en este estudio (dosis terapéutica 30 mg/kg. y la dosis media de la terapéutica 15 mg/kg.) no influyen en la aparición de algún daño a nivel de funcionamiento hepático, ya que no existe diferencia significativa entre los resultados de los lotes a los que se les aplicaron estas dosis y el control; en cambio sí existieron diferencias significativas con lo que respecta a la duración del tratamiento lo que nos indica que el tiempo es un factor importante en la aparición de las reacciones adversas, debido probablemente a la acumulación de fármaco.

Las diferencias mínimas significativas entre los tratamientos se observaron sobre todo en las determinaciones de las enzimas TGO, TGP, GGT y en la determinación de B.D.B.I; lo que nos hace suponer que el secnidazol provoca daño a nivel funcional en el hígado, ya que las transaminasas son indicativas de necrosis a nivel del hepatocito, la GGT y las bilirrubinas son de gran importancia en la evaluación de daños hepatobiliares.

La elevación de la GGT en el hígado humano se presenta en un gran número de enfermedades, especialmente en la ictericia obstructiva y obstrucciones intrahepáticas múltiples por metastasis hepáticas.

Aunque se observó que existe daño a nivel funcional en el hígado por lo antes mencionado, se puede decir que este fue leve, ya que no se observó diferencia mínima significativa entre los tratamientos en la determinación de lipoperoxidación, se hace esta suposición porque esta determinación nos ayuda a detectar si existe daño a nivel de la membrana del hepatocito a través de la destrucción de los lípidos de la membrana.

Tampoco se encontraron diferencias entre los tratamientos en la determinación de la cantidad de colágena y glucógeno.

De lo anterior podemos decir que aunque a nivel morfológico se observó un daño moderado, a nivel funcional es leve, esto se puede explicar posiblemente por el proceso de regeneración celular del hígado y por la variedad biológica de los animales, ya que para el estudio en el que se evaluó el daño a nivel morfológico se utilizaron animales de una cepa<sup>41</sup> distinta a la de los animales que se utilizaron para realizar el estudio a nivel funcional; por lo que sería conveniente realizar ambos estudios a la par y con la misma cepa de animales.

A pesar del efecto adverso provocado por secnidazol en hígado, este fármaco puede ser utilizado para el tratamiento de la amibiasis, teniendo suficiente cuidado en su manejo para evitar llegar a provocar la reacción adversa ya mencionada. Además de la ventaja que tiene este fármaco de ser utilizado como tratamiento de corta duración.

Es de gran importancia clínica para el humano la evaluación de este órgano, ya que en él se llevan a cabo los procesos de biotransformación de casi todos los fármacos y también se encarga de la detoxificación del organismo, por lo que se debe realizar la evaluación funcional de este antes y después de una terapia en la que se administren fármacos que provoquen reacciones adversas a nivel hepático.

Este estudio es de gran trascendencia, ya que existe una escasa información acerca de las reacciones adversas que puede provocar el Secnidazol, debido a que es un fármaco de reciente aparición en el mercado, por la importancia que tiene este tipo de medicamentos en la salud pública debido a la alta frecuencia de amibiasis en nuestro país y los notorios beneficios terapéuticos que ofrece en el tratamiento de la amibiasis

Aunque este estudio se realizó con animales de laboratorio (ratas), es una referencia que puede ser útil cuando se prescribe este fármaco en humanos

Además de evaluar la eficacia terapéutica (beneficio) de un nuevo fármaco, también es necesario considerar la posibilidad de que cause reacciones adversas (riesgo). Por lo que la OMS ha recomendado la creación de sistemas nacionales e internacionales para la identificación de las reacciones adversas y la manera de poder prevenirlas.

A consecuencia de esto ha surgido la farmacovigilancia o vigilancia farmacológica que se encarga de la notificación, registro y evaluación sistemática de las reacciones adversas de los fármacos nuevos; determina también la frecuencia de las reacciones adversas de los medicamentos con el objetivo de evaluar el significado clínico de las mismas. Por todo esto la Farmacovigilancia es un factor importante que establece la relación beneficio/riesgo de los medicamentos.

## **8. CONCLUSIONES**

Estadísticamente no hay diferencia significativa entre las dosis utilizadas, en este estudio (30 mg/kg y 15 mg/kg) y el control lo que implica que la dosis en este caso no fue un factor determinante en la aparición de el efecto adverso a nivel funcional en el hígado.

El secnidazol altera la actividad enzimática de la transaminasa glutámica oxalacética (TGO), transaminasa glutámica pirúvica (TGP), gamma-glutamil transpeptidasa (GGT); así como la concentración de los metabolitos como la bilirrubina directa (B.D.) e indirecta (B.I.) en el período de tiempo que se administró este fármaco durante este estudio por lo que concluimos que el Secnidazol si provoca daño funcional a nivel hepático.



## 9. APÉNDICE I

### 9.1. FOSFATASA ALCALINA

#### FUNDAMENTO:

Las fosfatasa transfieren un grupo fosfato de un compuesto a otro formando un alcohol y un nuevo compuesto fosfato. Cuando el aceptor del fosfato es el agua, se forma un ortofosfato inorgánico. La actividad óptima de estas enzimas se ejerce a un pH aproximadamente igual a 10.0. La fosfatasa alcalina requiere iones  $Mg^{2+}$  y  $Zn^{2+}$  para su estabilidad y actividad máxima.

El sustrato (incoloro) es convertido, a pH alcalino en el ion p-nitrofenol de color amarillo. La reacción se mide por el aumento de la absorbancia a 410 nm.<sup>21</sup>

#### PROCEDIMIENTO

- 1.- Se mezclan 0.25 ml buffer de glicina 0.1 M /  $MgCl_2$  1 mM, pH 10.5.
- 2.- 0.25 ml de sustrato de p-nitrofenilfosfato.
- 3.- Se colocar en baño maría a 37°C por 5 minutos.
- 4.- Se añaden 50 µl de la muestra, mezclar suavemente.
- 5.- Se incuba por 30 minutos a 37° C.
- 6.- Se parar la reacción con 5 ml de NaOH 0.02 N, agitar por inversión.

7.- Se lee la absorbancia a una longitud de onda de 410 nm.

**NOTA:**

Para el blanco se realiza el mismo procedimiento pero colocando 50  $\mu$ l de agua en lugar de la muestra. Se calibra con agua y se lee el blanco.

**Preparación del sustrato:**

100 mg de p-nitrofenilfosfato disódico en 25 ml de agua (es estable 4 semanas congelado).

**CURVA ESTÁNDAR PARA LA FOSFATASA ALCALINA**

TUBO	ml DE LA SOL. (2)	ml DE LA SOL. (3)	$\mu$ MOLES DE SUSTRATO HIDROLIZADO
1	0.5	5.0	0.025
2	1.0	4.5	0.05
3	2.0	3.5	0.1
4	3.0	2.5	0.15
5	4.0	1.5	0.2
6	5.0	0.5	0.25

Los tubos se leen a 410 nm.

#### SOLUCIONES:

1.- p-nitrofenol solución estándar de 10  $\mu$ moles/ml.(1)

2.- 0.5 ml. de solución (1) llevado a 100 ml con NaOH 0.02 N. (2)

3.- NaOH 0.02 N. (3)

NOTA: El blanco se hace con 5.5 ml. de la solución 3 y leyendo a 410 nm.<sup>23</sup>

## 9.2. TRANSAMINASA GLUTÁMICO PIRÚVICA

#### FUNDAMENTO:

La transaminación enzimática consiste en la transferencia reversible de un alfa aminoácido o un aminoácido a un alfa-cetoácido con la síntesis de un segundo aminoácido y un segundo alfa-cetoácido<sup>23</sup>.

La reacción es la siguiente<sup>24</sup>:



### PROCEDIMIENTO<sup>23</sup>:

Se rotulan los tubos blanco y problema para cada muestra.

	PROBLEMA (ml)	BLANCO (ml)
1.- Solución de sustrato	0.250	0.25
2.- Suero problema	-	0.050
3.- Se mezcla y se agita suavemente, incubar a 37°C durante 60 min.		
4.- Se agrega el reactivo cromógeno	0.25	0.250
5.- Luego el suero problema	0.050	- - -
6.- Se incuba a 37°C durante 15 min.		
7.- Se detienen la reacción con NaOH 0.4 N	2.500	2.500
Se leen los tubos a 515 nm. y se ajusta con agua.		

### PREPARACIÓN DE REACTIVOS PARA REALIZAR LA CURVA ESTÁNDAR DE TGP:

Buffer de fosfatos 0.1 M pH 7.4. Mezclar 840 ml de solución 0.1 M de fosfato disódico con 160 ml de solución 0.1 M de fosfato monopotásico.

Solución de sustrato. Disolver 1.78 g de D/L-alanina y 30 mg de ácido alfaetoglutarico en solución buffer; añadir 0.5 ml de hidróxido de sodio 1 N y completar hasta 100 ml con solución buffer. Conservar a 4°C.

**Reactivo cromógeno.** Disolver 200 mg de 2,4-dinitrofenilhidrazina en ácido clorhídrico 1 N caliente y completar hasta un litro con HCl 1 N; y así la solución obtenida es 1 mM.

**Solución estándar de piruvato (1  $\mu\text{mol/ml}$ ).** Disolver 1 mg de piruvato sódico en 100 ml de solución buffer.

#### PIRÚVICA CURVA DE CALIBRACIÓN DE TRANSAMINASA GLUTÁMICA

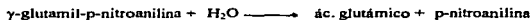
Tubo número	1	2	3	4	5	6	7
Solución sustrato ( $\mu\text{l}$ )	250	225	200	175	150	125	100
Solución estándar de piruvato ( $\mu\text{l}$ )	---	25	50	75	100	125	150
Buffer de fosfatos ( $\mu\text{l}$ )	50	50	50	50	50	50	50
Reactivo cromógeno ( $\mu\text{l}$ )	250	250	250	250	250	250	25
NaOH 0.4 N. ml.	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
$\mu\text{moles de piruvato}$	---	0.025	0.050	0.075	0.100	0.125	0.15

### 9.3. GAMMA GLUTAMIL TRANSPEPTIDASA

#### FUNDAMENTO:

La  $\gamma$ -glutamyl transferasa (GGT) cataliza la transferencia de un grupo  $\gamma$ -glutamilo a un aminoácido o péptido (transpeptidación externa), a otra molécula de sustrato (transpeptidación interna), o al agua (hidrólisis)<sup>22</sup>.

La reacción es la siguiente:



Esta reacción se mide a 410 nm.

#### PROCEDIMIENTO<sup>22</sup>:

De las dos mezclas de reacción que describen los autores, se utilizó la actividad estimulada con glicil-glicina, con un volumen total de reacción de 1 ml.

En cada tubo poner:

- 400  $\mu$ l de Tris-HCl 200 mM, pH 8.2.
- 100  $\mu$ l de  $MgCl_2$  200 mM.
- 100  $\mu$ l Glicil-glicina 40 mM, pH 8.2.
- 200  $\mu$ l Gamma-glutamyl-p-nitroanilida 10 mM.

Previa incubación por 10 minutos a 37°C, se inicia la reacción agregando 200  $\mu$ l de membranas o suero.

Se incuba a 37°C por 30 minutos y se detiene la reacción con 2 ml. de ácido acético 1.5 M. Se lee a 410 nm. Se cuantifica la p-nitroalínina producida mediante la curva estándar.

La reacción es lineal en el tiempo hasta la utilización de aproximadamente el 10% del sustrato (producción de aproximadamente 200 nmoles de p-nitroanilina en la mezcla de reacción).

Calibrar con agua y hacer un blanco sustituyendo los 200  $\mu$ l de membrana o suero por agua.

### CURVA ESTÁNDAR DE P-NITROANILINA

1.- Solución 1 . Pesar 13.81 mg de p-nitroanilina y llevarlos a 250 ml con ácido acético 1.5 M.

TUBO	$\mu\text{l}$ de sol. 1	$\mu\text{l}$ de $\text{H}_2\text{O}$	mM/ml
1	50	1950	10
2	100	1900	20
3	150	1850	30
4	250	1750	50
5	375	1625	75
6	500	1500	100
7	750	1250	150
8	1000	1000	200

**NOTA:** Calibrar con agua, no requiere blanco.



## 9.4. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO HEPÁTICO DE GLUCÓGENO

### FUNDAMENTO:

Este procedimiento consiste en la digestión de una muestra de hígado la cual contiene glucógeno que es hidrolizado con KOH 30% dando como resultado glucosa, que se cuantifica colorimétricamente con el reactivo de antrona.<sup>25</sup>

### PROCEDIMIENTO<sup>25</sup>:

- 1.- Se pesan 0.5 g de hígado en tubos de ensayo grandes, se adicionan 1.5 ml de KOH al 30%, se tapan con canicas y se hierven en baño de agua durante 30 minutos.
- 2.- Después de enfriar pasar cuantitativamente a un matraz volumétrico de 25 ml, se afora con agua agitando muy bien.
- 3.- Del matraz anterior tomar de 1 a 4 ml con pipeta volumétrica y volver a diluir a 25 ml con H<sub>2</sub>O .
- 4.- De esta dilución poner 1 ml en tubos grandes, preparar además un tubo blanco que contenga 1 ml de agua y otros 2 con 1 ml de una solución de glucosa estándar (20 µg/ml).
- 5.- Preparar una solución de antrona al 0.2% en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado. Añadir 2 ml a cada tubo agitando suavemente ( con ayuda de una bureta) y enfriando sobre hielo.

6.- Tapar los tubos fríos con canicas y ponerlos en un baño de agua hirviendo por 15 minutos.

7.- Enfriar de inmediato sobre agua con hielo. Leer a 620 nm.

#### CÁLCULOS:

$$(20 \times A_m)/(1.11 \times A_s) = \mu\text{g de glucógeno en la alícuota}$$

donde:  $A_m$  = Absorbancia de la muestra.

$A_s$  = Absorbancia del estándar.

Expresar los resultados como gramos de glucógeno por 100 g/l de hígado.

### 9.5. MÉTODO DE LA LIPOPEROXIDACIÓN

#### FUNDAMENTO:

La lipoperoxidación comprende la formación y la propagación de radicales lípidos, el desprendimiento de oxígeno, un rearrreglo de los dobles enlaces en lípidos insaturados, y la eventual destrucción de los lípidos de la membrana, produciendo una variedad de productos de desecho, incluyendo alcoholes, cetonas, aldehídos y éteres<sup>24</sup>.

**REACTIVOS:**

- Tris HCL 150 mM pH 7.4
- Ácido tricloroacético (TCA) al 15 %
- Ácido tiobarbitúrico (TBA) 0.375% p/v en TCA al 15%

**PROCEDIMIENTO<sup>26</sup>:**

- 1.- Se pesan 0.5 g de hígado.
- 2.- Se homogenizan en 5 ml de agua.
- 3.- Se toman 300  $\mu$ l del homogenado al 10% y se agregan 700  $\mu$ l de Tris-HCl 150 mM para completar .
- 4.- Se incuba a 37°C por 30 minutos.
- 5.- Posteriormente se agregan 2 ml de TBA al 0.375% disuelto en TCA al 15%.
- 6.- Se calienta a ebullición por 45 minutos.
- 7.- Se centrifuga a 3000 rpm por 10 minutos y se lee el sobrenadante a 532 nm.

**CÁLCULOS:**

$$C = (A) / (E L)$$

donde: **A** = Absorbancia de la muestra.

**L** = Longitud de la celda (0.75 cm para el Coleman 54).

**E** = Coeficiente de extinción del Malondialdehído (MDA) =  $1.56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ .

Hacer una dilución 1:10 del homogenado y tomar 20  $\mu\text{l}$  para determinar proteínas. Expresar como nmoles de MDA / mg de proteína.

## 9.6. DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS ( MÉTODO DE BRADFORD )<sup>40</sup>

### REACTIVOS :

#### COMPOSICIÓN DEL REACTIVO DE BRADFORD:

- Ácido fosfórico al 85%	100 ml.
-Alcohol etílico al 96%	50 ml.
-Azul de Coomassie G-250	100 mg.
-Agua	llevar a un l lt

### PROCEDIMIENTO:

- 1.- Se toman 100  $\mu$ l del homogenado y se lleva a 1,000  $\mu$ l con agua tridestilada.
- 2.- Tomar alícuotas para proteínas y llevarlas a 100  $\mu$ l con agua ( 20  $\mu$ l de la dilución anterior + 80  $\mu$ l de agua tridestilada).
- 3.- El blanco se prepara poniendo 100  $\mu$ l de agua.
- 4.- Se añaden 2.5 ml del reactivo de Bradford.
- 5.- Se lee la absorbancia a 595 nm.

6.- Se prepara una curva de calibración utilizando albúmina sérica bovina ( 1mg/ml).  
Poniendo 10,20,30,40,50,60,70,80,90 y 100 µl.

## 9.7. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO HEPÁTICO DE COLÁGENA

### FUNDAMENTO:

Sólo se determinó la proteína colagénica que es la hidroxiprolina, ya que esta se forma por la hidroxilación postsíntesis de residuos de prolina que es la que forma la parte procolagénica<sup>45</sup>. Se realizan una serie de extracciones con tolueno para obtener el pirrol que al ser mezclado con el reactivo de Erlich da como resultado una reacción colorida la cual se lee a 560 nm<sup>28</sup>.

### PROCEDIMIENTO:

- 1.- Se pesa 0.1 g de hígado de rata previamente secado con papel filtro y se coloca en una ampollita.
- 2.- Se agregan 2 ml de HCl 6 N y se sellan con el mechero ó soplete, para posteriormente colocarlas a 100°C en el horno durante 24 horas.

**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

3.- Una vez hidrolizada la muestra, se rompe la ampollita y se coloca nuevamente al homo a temperatura de 60 - 80°C aproximadamente 24 horas o hasta que seque.

4.- La muestra ya seca se resuspende con 2 ml de solución amortiguadora (Sol. 1 ); se agita vigorosamente en el vortex y se vacía en un tubo de ensayo, y se lava la ampollita con la adición de 1 ml de la misma solución. Se centrifuga a 3000 rpm durante 15 minutos.

5.- En un tubo conteniendo una pequeña porción de anorita se deposita el sobrenadante, se agita durante un minuto, centrifugar a 3000 r.p.m. por 15 minutos, si se observa que el sobrenadante no queda claro repetir nuevamente este paso.

6.- Se toma 1 ml de este sobrenadante más 1 ml de agua y 1 ml de Cloramina T (Sol. 2). Se deja reposar exactamente 20 minutos a temperatura ambiente.

7.- Transcurridos los 20 minutos, adicionar 0.5 ml de tiosulfato de sodio 2 M, 1 ml de NaOH 1 N y aproximadamente 2 g de NaCl. Agitar inmediatamente para detener la reacción.

8.- Agregar 6 ml de tolueno y agitar 1 minuto. La fase de tolueno es utilizable para la determinación de prolina y la fase acuosa para la hidroxiprolina.

NOTA: Hasta este momento la determinación de prolina e hidroxiprolina es común. De acuerdo al requerimiento, seguir la necesaria .Como ya se mencionó en anteriormente solo se va a determinar la hidroxiprolina.

## HIDROXIPROLINA

9. Se extrae la capa de tolueno y se desecha. La porción acuosa se cubre y se coloca a un baño hirviendo durante 20 minutos.

10. Los tubos se enfrían 15 minutos preferentemente en refrigerador. Ya fríos se les adiciona 6 ml de tolueno y se agitan durante 1 minuto.

11. De la fase de tolueno se toman alícuotas por duplicado de 1 ml y se les agrega 4 ml del reactivo de Erlich.

12. Se dejan reposar durante 30 minutos para que se lleve a cabo la reacción colorida. Pasados los mismos se lee a 560 nm.

## REACTIVOS.

Solución 1: Solución amortiguadora (Relación para un litro de buffer).

Buffer acetato de sodio - ácido cítrico, pH = 6.

50 g de ácido cítrico.

120 g de acetato de sodio (3H<sub>2</sub>O).

34 g de hidróxido de sodio.

15 ml de ácido acético glacial.

El buffer se mantiene en refrigeración y es estable por meses.



Solución 2: Solución de Cloramina T (Cloramine T. Relación para 10 ml) 0.141 g de cloramina T se mezclan con 2 ml de agua destilada, 3 ml de etilen glicol y 5 ml de solución amortiguadora. Esta solución debe prepararse en el momento de ser usada.

Solución 3: Reactivo de Erlich.

A.- Se toman 27.4 ml de  $H_2SO_4$  concentrado y se agregan lentamente a 200 ml de alcohol absoluto en un vaso sobre hielo.

B.- Se pesan 120 g de p-dimetilaminobenzaldehído y se disuelven en 200 ml de alcohol absoluto.

La mezcla ácido-etanol (A) se agrega lentamente y con agitación a la solución (B) en hielo.

La solución puede almacenarse en el refrigerador por varias semanas.

Los cristales que precipitan por el enfriamiento se disuelven calentando la solución y agitándola.

### CURVA ESTÁNDAR DE HIDROXIPROLINA

10 mg de hidroxiprolina ( 76.26  $\mu\text{mol}$ ) se llevan a un volumen de 76.26 ml, resultando una solución de concentración es de 1  $\mu\text{mol/ml}$  = 1  $\text{nmol}/\mu\text{l}$ .

TUBO	$\mu\text{l}$ SOLUCIÓN (1 $\mu\text{mol/ml}$ )	H <sub>2</sub> O $\mu\text{l}$	CONTENIDO DE HIDROXIPROLINA EN nMOL
1	10	1990	10
2	20	1980	20
3	50	1950	50
4	70	1930	70
5	100	1900	100
6	150	1850	150
7	200	1800	200
8	300	1700	300
9	400	1600	400
10	500	1500	500
BLANCO	—	2000	—

- 1.- Se colocan en un tubo con rosca y tapón, se les adiciona 1 ml de cloramina T (Sol.2). Se deja reposar 20 minutos a temperatura ambiente.
- 2.- Pasados los 20 minutos se detiene la reacción por la adición de 500  $\mu$ l de tiosulfato de sodio 2 M, con 1 ml de NaOH 1 N y con aproximadamente 2 g de NaCl. Agitar inmediatamente ( de esto depende que se detenga la reacción).
- 3.- Agregar 6 ml de tolueno a cada muestra y agitar durante 1 minuto.
- 4.- Se extrae la capa de tolueno, se desecha y el contenido acuoso se cubre con su respectivo tapón y se coloca en un baño hirviendo durante 20 minutos.
- 5.- Se enfrían los tubos y nuevamente se les agregan 6 ml de tolueno y se agitan durante 1 minuto.
- 6.- Tomar por duplicado una alícuota de 1 ml de la fase de tolueno y mezclar con 4 ml de reactivo de Erlich y agitar vigorosamente.
- 7.- Los tubos se mantienen a temperatura ambiente durante 30 minutos para desarrollar color. Leer en el espectrofotómetro a 560 nm.



ii.- El resto de los cálculos se demuestra con un ejemplo:

$$A = 0.1287$$

$$A = 0.1431$$

$$\text{BLANCO} = 0.0578$$

$$m = 0.0019 \text{ nMoles}$$

$$A = 0.1359$$

$$A\text{-Bco.} = 0.0781$$

$A = 0.0781 \times 3 = 0.2343$  Se multiplica por tres, ya que se toma una  
alícuota de 1 ml de la muestra disuelta en  
3 ml de buffer de citrato de sodio.

$$A/m = 0.2343 / 0.0019 = 123.32 \text{ nMoles}$$

Interpolación en la curva estándar.

123.32 ----- 0.1 g de hígado Se multiplica x 10, ya que la muestra inicial  
es de 0.1 g.

$$x \text{ ----- } 1 \text{ g de hígado}$$

$$x = 1233.2 \text{ nM}$$

$$131.13 \text{ ----- } 1 \times 10^9 \text{ nmol}$$

Cálculo de g de hidroxiprolina en la muestra.

$$x \text{ ----- } 1233.2 \text{ nmol}$$

$$x \text{ ----- } 0.0001617 \text{ g.}$$

$$1 \text{ g} \text{ ----- } 1000 \text{ mg}$$
$$0.0001617 \text{ g} \text{ -- } x = 0.1617 \text{ mg}$$

Cálculo de mg de hidroxiprolina por g de hígado

$$x = 0.1617 \text{ mg Hp / g de hígado}$$

iii.- Cálculo utilizando un factor

$$A - \text{Bco.} = A / (m \times 3 \times 10 \times 131.1 \times 1 \times 10^{-9} \times 1000 \times 7.32)$$

$$( \times 10 \times 10^{-9} \times 1000 = 10^{-5} )$$

$$A / (m \times 3 \times 131.1 \times 10^{-5} \times 7.32)$$

$$A / (m \times 2878.96 \times 10^{-5}) = 20.0288 \text{ mg de colágena/g de hígado}$$

$$= A / (m \times 0.0288)$$

## 9.8. DETERMINACIÓN DE BILIRRUBINA<sup>20</sup>

### FUNDAMENTO:

La bilirrubina forma con el ácido sulfanílico diazotado un colorante azoico, que en solución neutra es rojo y en solución alcalina azul. El glucurónido de bilirrubina hidrosoluble reacciona directamente, mientras que la bilirrubina indirecta libre, reacciona tan sólo en presencia de un acelerador.

La bilirrubina total en suero o plasma, se determina por copulación con ácido sulfanílico diazotado tras la adición de cafeína, benzoato de sodio. Con la solución II alcalina de Fehling, se forma azobilirrubina azul, cuyo contenido puede determinarse también en presencia de subproductos amarillos (coloración mixta verde), de manera selectiva por fotometría a 578 nm.

La bilirrubina directa se mide sin adición de álcali, como colorante azoico rojo a 546 nm. La bilirrubina indirecta se obtiene de la diferencia entre la bilirrubina total y la bilirrubina directa.

### MATERIAL DE MUESTRA:

Suero o plasma no hemolizado.

La estabilidad de la bilirrubina en suero, protegido de la luz, es de 8 horas a temperatura ambiente entre +15 y +25°C y de 16 horas en refrigeración, a temperatura entre +2 y +8°C.

**REACTIVOS:**

Ácido sulfanílico ( $C_6H_7NO_3S$  29 mmol/L).

Solución de nítrito de sodio ( $NaNO_2$  29 mmol/L).

Acelerador (cafeína 130 mmol/L, benzoato de sodio 156 mmol/L, acetato de sodio 460 mmol/L).

Solución de II de Fehling (tartrato de sodio y potasio 930 mmol/L, hidróxido de sodio 1.9 mol/L).

Bien cerrados y a temperatura ambiente, entre +15 y +25°C, los reactivos se conservan hasta la fecha de caducidad indicada en el envase.

**PROCEDIMIENTO:**

**1.- BILIRRUBINA TOTAL<sup>21</sup>**

Longitud de onda : 578 nm.

Espesor de la cubeta : 1 cm.



Se prepara un blanco solamente para sueros turbios

Pipetear en tubos de ensayo:

	PROBLEMA	BLANCO
Ácido sulfanílico	0.2 ml	0.2 ml
Nitrito de sodio	1 gota*	---
Acelerador	1.0 ml	1.0 ml
Suero	0.2 ml	0.2 ml
Mezclar y dejar reposar de 10 a 60 minutos, a temperatura entre +15 y +25°C.		
Solución II de Fehling	1.0 ml	1.0 ml
Mezclar, medir las extinciones** de los problemas después de 5 a 30 minutos contra agua destilada y, en caso necesario, contra el blanco.		

\*\*Si las extinciones exceden 1.0, deberá diluirse el suero a 1 + 5 (1:6) con solución salina fisiológica y multiplicarse por 6 el resultado obtenido.

## 2.- BILIRRUBINA DIRECTA

La bilirubina directa, principalmente los glucurónidos, hidrosolubles de bilirubina, reaccionan a los 5 minutos sin la adición de un acelerador. La bilirubina libre, bajo estas condiciones, reacciona más lentamente<sup>30</sup>.

Longitud de onda : 546 nm.

Espesor de la cubeta : 1 cm.

Pipetear en tubos de ensayo :

	PROBLEMA	BLANCO
Ácido sulfanílico	0.2 ml	0.2 ml
Nitrito de sodio	1 gota	---
Solución salina fisiológica	2.0 ml	2.0 ml
Suero	0.2 ml	0.2 ml

Mezclar inmediatamente, dejar reposar a temperatura entre +15 y +25°C.

A los 5 minutos exactos, tras la adición del suero, medir las extinciones de los problemas contra el blanco.

**CÁLCULO:**

Concentración de bilirrubina directa =  $E \times 13.7 \text{ mg}/100$

=  $E \times 235 \text{ } \mu\text{mol}$

## 9.9. TRANSAMINASA GLUTÁMICA OXALACÉTICA

### FUNDAMENTO:

Actúa igual que la transaminasa glutámico pirúvica. La reacción es la siguiente:



### PROCEDIMIENTO<sup>23</sup>

Se rotulan los tubos blanco y problema para cada muestra.

	BLANCO (ml)	PROBLEMA (ml)
1.- Solución de sustrato	0.25	0.25
2.- Suero problema	--	0.050
3.- Mezclar y agitar suavemente, incubar a 37°C durante 60 min.		
4.- Reactivo cromógeno	0.25	0.25
5.- Suero problema	0.050	--
6.- Incubar a 37°C durante 15 minutos.		
7.- NaOH 0.4 N	2.5	2.5
Leer los tubos a 515 nm. y ajustar con agua.		

**REACTIVOS:**

Buffer de fosfatos 0.1 M pH 7.4. Mezclar 840 ml de solución 0.1 M de fosfato disódico con 160 ml de solución 0.1 M de fosfato monopotásico.

Solución de sustrato. Disolver 178 g de aspartato y 30 mg de ácido cetoglutárico en solución buffer, añadir 0.5 ml de hidróxido de sodio 1 N y completar hasta 100 ml con solución buffer. Conservar a 4°C.

Reactivo cromógeno. Disolver 200 mg de 2,4-dinitrofenilhidrazina en ácido clorhídrico 1 N caliente y completar hasta un litro con HCl 1 N y así la solución que se prepara es 1 mM.

Solución estándar de oxalacetato (1  $\mu\text{mol/ml}$ ). Disolver 11 mg de oxalacetato sódico en 100 ml de solución buffer. Prepararse en el momento.

**CURVA DE CALIBRACIÓN DE TRANSAMINASA GLUTÁMICA OXALACÉTICA**

TUBO No.	1	2	3	4	5	6	7
SOLUCIÓN SUSTRATO ( $\mu$ )	250	225	200	175	150	125	100
SOLUCIÓN ESTÁNDAR PIRUVATO ( $\mu$ ) DE	—	25	50	75	100	125	150
BUFFER FOSFATOS ( $\mu$ ) DE	50	50	50	50	50	50	50
REACTIVO CROMÓGENO ( $\mu$ )	250	250	250	250	250	250	250
NaOH 0.4 N (ml)	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
$\mu\text{moles de PIRUVATO}$	—	0.025	0.05	0.075	0.10	0.125	0.150

## 10. APÉNDICE II

### 10.1. MODELO ESTADÍSTICO

#### 1.- MODELO.

Para el análisis estadístico de estos valores se realizó una prueba por bloques completamente aleatorizados (BCA) de acuerdo con el siguiente modelo estadístico<sup>14</sup>:

$$x_{ij} = \mu + \beta_i + \tau_j + e_{ij}$$

$$i = 1,2,3,\dots,n \quad ; \quad j = 1,2,3,\dots,k$$

donde:

$x_{ij}$  es un valor típico de la población en total.

$\mu$  es una constante desconocida.

$\beta_i$  representa un efecto de bloque que refleja el hecho de que la unidad cayó en el  $i$ -ésimo bloque

$\tau_j$  representa un efecto de tratamiento, que refleja el hecho de que la unidad experimental recibió el  $j$ -ésimo tratamiento.

$e_{ij}$  es un componente residual que representa todas las fuentes de variación que no sean los tratamientos y los bloques.

**TABLA DE VALORES DE LA MUESTRA PARA EL DISEÑO DE BLOQUES COMPLETAMENTE ALEATORIZADOS**

BLOQUES	TRATAMIENTOS				TOTAL	MEDIA
	1	2	3	K		
1	X <sub>11</sub>	X <sub>12</sub>	X <sub>13</sub>	X <sub>1K</sub>	T <sub>1</sub>	X <sub>·1</sub>
2	X <sub>21</sub>	X <sub>22</sub>	X <sub>23</sub>	X <sub>2K</sub>	T <sub>2</sub>	X <sub>·2</sub>
3	X <sub>31</sub>	X <sub>32</sub>	X <sub>33</sub>	X <sub>3K</sub>	T <sub>3</sub>	X <sub>·3</sub>
.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.
n	X <sub>n1</sub>	X <sub>n2</sub>	X <sub>n3</sub>	X <sub>nK</sub>	T <sub>n</sub>	X <sub>·n</sub>
<b>TOTAL</b>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>K</sub>	T	
<b>MEDIA</b>	X <sub>·1</sub>	X <sub>·2</sub>	X <sub>·3</sub>	X <sub>·K</sub>		X <sub>··</sub>

NOTA: LOS BLOQUES EQUIVALEN A LAS POSIS UTILIZADAS EN ESTE TRABAJO.

**2.- SUPOSICIONES:**

$$q = \sum_{i=1}^b \sum_{j=1}^t (x_{ij} - \bar{x})^2$$

$$q_1 = b \sum_{j=1}^t (x_{.j} - \bar{x})^2$$

$$q_2 = t \sum_{i=1}^b (x_{i.} - \bar{x})^2$$

$$q_3 = q - q_1 - q_2$$

### 3.- HIPÓTESIS:

#### TRATAMIENTOS :

1.-  $H_0 = \mu_{j1} = \mu_{j2} = \mu_{j3} = \mu_{j4} = \mu_{j5}$  (el tratamiento no influye).

$H_a = \mu_{j1} \neq \mu_{j2} \neq \mu_{j3} \neq \mu_{j4} \neq \mu_{j5}$  (el tratamiento si influye).

2.-  $\alpha = 0.05$

3.- Se rechaza  $H_0$  si  $F_{cal} = \frac{\frac{q_1}{t-1}}{\frac{q_2}{(t-1)(b-1)}} > F_{\alpha} [(t-1), (t-1)(b-1)]$

#### BLOQUES:

1.-  $H_0 = \mu_{i1} = \mu_{i2} = \mu_{i3}$  (no existe diferencia entre los bloques).

$H_a = \mu_{i1} \neq \mu_{i2} \neq \mu_{i3}$  (si existe diferencia entre los bloques).

2.-  $\alpha = 0.05$

3.- Se rechaza  $H_0$  si  $F_{cal} = \frac{\frac{q_2}{b-1}}{\frac{q_1}{(b-1)(t-1)}} > F_{\alpha} [(b-1), (b-1)(t-1)]$

De acuerdo a este análisis se obtiene:

TABLA No. 1

VALORES DE Fcalculada PARA SECNIDAZOL

DETERMINACIONES	F.A	TGP	TGO	B.D.	B.I	GGT	COL.	GLU.	LIPO.
TRATAMIENTOS	0.83	16.57*	10.70*	105.20*	3.91*	17.36*	132.75*	10.37*	60.21*
BLOQUES	0.20	0.22	1.630	0.32	0.52	0.32	0.63	0.28	3.61

EL VALOR DE Ftablas PARA TRATAMIENTOS = 3 84 Y PARA BLOQUES = 4 46

\* A ESTOS VALORES SE LES REALIZÓ UNA PRUEBA APOSTERIORI, POR DIFERIR ENTRE LOS TRATAMIENTOS

NOTA: LOS BLOQUES EQUIVALEN A LAS DOSIS UTILIZADAS EN ESTE TRABAJO

10.2. PRUEBA APOSTERIORI Ó DIFERENCIA MÍNIMA SIGNIFICATIVA HONESTA (DMSH) Ó TUCKEY.

$\alpha = 5\%$

$t = 5$  (porque se utilizaron 5 tratamientos)

$g.l. = 8$  (este valor es el del error del denominador para los tratamietos)

$Q_{\alpha, t, g.l.}$  por lo tanto  $Q_{5\%, 5, 8} = 4.84$

Se hace una diferencia de la medias de los tratamientos ( $x_{t1} - x_{t2} = t_r$ ) y el resultado de esta operación se compara con el de  $q$  o sea con 4.84.

Por lo que si  $t_r > 4.84$  entonces hay diferencia mínima significativa y si  $t_r < 4.84$  no hay diferencia mínima significativa honesta entre los tratamientos.



TABLA No. 2

PRUEBA A POSTERIORI PARA TRATAMIENTOS PARA TGP.

TRATAMIENTO	DIFERENCIA	ESTADÍSTICO	SEÑAL	CRÍTICO	DECISION
T <sub>1</sub> -T <sub>3</sub>	38 2968 - 42 8147	4 5179	<	4.84	NO HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>3</sub>	38 2968 - 46 7616	8 4648	>	4.84	SI HAY DMSH
T <sub>3</sub> -T <sub>3</sub>	42 8147 - 46 7616	3 9469	<	4.84	NO HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>2</sub>	38 2968 - 12 2986	25 9982	>	4.84	SI HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>4</sub>	382968 - 13 1927	25 1041	>	4.84	SI HAY DMSH
T <sub>2</sub> -T <sub>3</sub>	12 2986 - 42 8147	30 5161	>	4.84	SI HAY DMSH
T <sub>2</sub> -T <sub>3</sub>	12 2986 - 46 7616	34 463	>	4.84	SI HAY DMSH
T <sub>2</sub> -T <sub>4</sub>	12 2986 - 13 1927	0 8941	<	4.84	NO HAY DMSH
T <sub>3</sub> -T <sub>4</sub>	42 8147 - 13 1927	29 622	>	4.84	SI HAY DMSH
T <sub>4</sub> -T <sub>4</sub>	46 7616 - 13 1927	33 5692	>	4.84	SI HAY DMSH

TABLA No. 3

PRUEBA A POSTERIORI PARA TRATAMIENTOS PARA TGO

TRATAMIENTO	DIFERENCIA	ESTADÍSTICO	SEÑAL	CRÍTICO	DECISION
T <sub>1</sub> -T <sub>2</sub>	63 4958 - 5501781	8 3177	>	4.84	SI HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>3</sub>	63 4958 - 52 0443	11 4515	>	4.84	SI HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>4</sub>	63 4958 - 91 4933	27 9975	>	4.84	SI HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>4</sub>	63 4958 - 23 8672	39 7286	>	4.84	SI HAY DMSH
T <sub>2</sub> -T <sub>1</sub>	55 1781 - 52 0443	3 1338	<	4.84	NO HAY DMSH
T <sub>2</sub> -T <sub>4</sub>	55 1781 - 91 4933	36 3152	>	4.84	SI HAY DMSH
T <sub>2</sub> -T <sub>1</sub>	55 1781 - 91 4933	36 3152	>	4.84	SI HAY DMSH
T <sub>3</sub> -T <sub>4</sub>	52 0443 - 91 4933	39 449	>	4.84	SI HAY DMSH
T <sub>3</sub> -T <sub>4</sub>	52 04743 - 23 8672	28 1771	>	4.84	SI HAY DMSH
T <sub>4</sub> -T <sub>1</sub>	91 4933 - 23 8672	67 6261	>	4.84	SI HAY DMSH

**TABLA No.4**

**PRUEBA A POSTERIORI PARA TRATAMIENTOS PARA B.D**

T <sub>1</sub> -T <sub>2</sub>	DIFERENCIA	T <sub>1</sub> -T <sub>2</sub>	>	4.84	SI HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>1</sub>	12 1269 - 19 4533	7 3264	>	4.84	SI HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>1</sub>	12 1269 - 1 4226	10 7043	>	4.84	SI HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>1</sub>	12 1269 - 0 612	11 5149	>	4.84	SI HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>1</sub>	12 1269 - 0 8188	11 3081	>	4.84	SI HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>1</sub>	19 4533 - 1 4226	18 0307	>	4.84	SI HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>1</sub>	19 4533 - 0 612	1808413	>	4.84	SI HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>1</sub>	19 4533 - 0 8188	18 6345	>	4.84	SI HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>1</sub>	1 4226 - 0 612	0 8106	<	4.84	NO HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>1</sub>	1 4226 - 0 8188	0 6038	<	4.84	NO HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>1</sub>	0 612 - 0 8188	0 2068	<	4.84	NO HAY DMSH

**TABLA No.5**

**PRUEBA A POSTERIORI PARA TRATAMIENTOS PARA B.I.T.**

T <sub>1</sub> -T <sub>2</sub>	DIFERENCIA	T <sub>1</sub> -T <sub>2</sub>	>	4.84	SI HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>1</sub>	1 013 - 6 07	5 594	>	4.84	SI HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>1</sub>	1 013 - 2 193	1 18	<	4.84	NO HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>1</sub>	1 013 - 6 3145	5 3015	>	4.84	SI HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>1</sub>	1 013 - 4 059	3 046	<	4.84	NO HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>1</sub>	6 607 - 2 193	4 414	<	4.84	NO HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>1</sub>	6 607 - 6 3145	0 2925	<	4.84	NO HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>1</sub>	6 607 - 4 059	2 548	<	4.84	NO HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>1</sub>	2 193 - 6 3145	4 1215	<	4.84	NO HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>1</sub>	2 193 - 4 059	1 866	<	4.84	NO HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>1</sub>	6 3145 - 4 059	2 2555	<	4.84	NO HAY DMSH

TABLA No. 6

PRUEBA A POSTERIORI PARA TRATAMIENTOS PARA GGT.

T <sub>1</sub> -T <sub>2</sub>	REFERENCIA	STAT	CR	DMSH	DECISION
T <sub>1</sub> -T <sub>1</sub>	11 7335 - 19 3583	7 6248	>	4.84	SI HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>2</sub>	11 7335 - 10 4842	1 2493	<	4.84	NO HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>3</sub>	11 7335 - 12 6590	0 9264	<	4.84	NO HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>4</sub>	11 7335 - 16 4536	4 7201	<	4.84	NO HAY DMSH
T <sub>2</sub> -T <sub>1</sub>	19 3583 - 10 4842	8 8741	>	4.84	SI HAY DMSH
T <sub>2</sub> -T <sub>2</sub>	19 3583 - 12 6590	6 6964	>	4.84	SI HAY DMSH
T <sub>2</sub> -T <sub>3</sub>	19 3583 - 16 4536	2 9047	<	4.84	NO HAY DMSH
T <sub>2</sub> -T <sub>4</sub>	10 4842 - 12 6590	2 1757	<	4.84	NO HAY DMSH
T <sub>3</sub> -T <sub>1</sub>	10 4842 - 10 4536	5 9004	>	4.84	SI HAY DMSH
T <sub>3</sub> -T <sub>2</sub>	12 6594 - 16 4536	3 7937	<	4.84	NO HAY DMSH

TABLA No. 7

PRUEBA A POSTERIORI PARA TRATAMIENTOS PARA COLÁGENA

T <sub>1</sub> -T <sub>2</sub>	REFERENCIA	STAT	CR	DMSH	DECISION
T <sub>1</sub> -T <sub>1</sub>	0.8722 - 1.7275	0.8553	<	4.84	NO HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>2</sub>	0.8722 - 1.6718	0.7996	<	4.84	NO HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>3</sub>	0.8722 - 0.1832	0.689	<	4.84	NO HAY DMSH
T <sub>1</sub> -T <sub>4</sub>	0.8722 - 2.1982	1.326	<	4.84	NO HAY DMSH
T <sub>2</sub> -T <sub>1</sub>	1.7275 - 1.6718	0.0557	<	4.84	NO HAY DMSH
T <sub>2</sub> -T <sub>2</sub>	1.7245 - 0.1832	1.5443	>	4.84	NO HAY DMSH
T <sub>2</sub> -T <sub>3</sub>	1.7275 - 2.1982	0.4707	<	4.84	NO HAY DMSH
T <sub>2</sub> -T <sub>4</sub>	1.6718 - 0.1832	1.4886	<	4.84	NO HAY DMSH
T <sub>3</sub> -T <sub>1</sub>	1.6718 - 2.1982	0.5264	<	4.84	NO HAY DMSH
T <sub>3</sub> -T <sub>2</sub>	0.1832 - 2.1982	2.015	<	4.84	NO HAY DMSH

TABLA No. 8

PRUEBA A POSTERIORI PARA TRATAMIENTOS PARA GLUCÓGENO

$T_1 - T_2$	3 2032 - 2 3166	0 8866	<	4 84	NO HAY DMSH
$T_1 - T_3$	3 2032 - 1 9082	1 295	<	4 84	NO HAY DMSH
$T_1 - T_4$	3 2032 - 2 0919	1 1113	<	4 84	NO HAY DMSH
$T_2 - T_3$	3 2032 - 3 8486	0 6452	<	4 84	NO HAY DMSH
$T_2 - T_4$	2 3166 - 1 9082	0 4084	<	4 84	NO HAY DMSH
$T_3 - T_4$	2 3166 - 2 0919	0 2247	<	4 84	NO HAY DMSH
$T_1 - T_5$	2 3166 - 3 8486	1 532	<	4 84	NO HAY DMSH
$T_2 - T_5$	1 9082 - 2 0919	0 1837	<	4 84	NO HAY DMSH
$T_3 - T_5$	1 0982 - 3 8486	1 9404	<	4 84	NO HAY DMSH
$T_4 - T_5$	2 0919 - 3 8486	1 7567	<	4 84	NO HAY DMSH

TABLA No. 9

PRUEBA A POSTERIORI PARA TRATAMIENTOS PARA LIPOPEROXIDACIÓN

	DIFERENCIA				DECISION
$T_1 - T_2$	0 2956 - 0 2974	0 0018	<	4 84	NO HAY DMSH
$T_1 - T_3$	0 2956 - 0 2747	0 0209	<	4 84	NO HAY DMSH
$T_1 - T_4$	0 2956 - 0 1580	0 1376	<	4 84	NO HAY DMSH
$T_1 - T_5$	0 2956 - 0 5748	0 2792	<	4 84	NO HAY DMSH
$T_2 - T_3$	0 2974 - 0 2747	0 0227	<	4 84	NO HAY DMSH
$T_2 - T_4$	0 2974 - 0 1580	0 1394	<	4 84	NO HAY DMSH
$T_2 - T_5$	0 2974 - 0 5748	0 2774	<	4 84	NO HAY DMSH
$T_3 - T_4$	0 2747 - 0 1580	0 1167	<	4 84	NO HAY DMSH
$T_3 - T_5$	0 2747 - 0 5748	0 3001	<	4 84	NO HAY DMSH
$T_4 - T_5$	0 1580 - 0 5748	0 4168	<	4 84	NO HAY DMSH

## 11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.- Bevan A. John (1982). "Fundamentos de Farmacología". Edt. Harla. 2a. edición México.
- 2.- Guarino, Richard A. (1993). "New drug approval process". Vol. 56. Drugs and the pharmaceutical sciences. 2a. edición. U.S.A.
- 3.- Litter, Manuel (1992); "Compendio de Farmacología". Edt. El Ateneo. 4a. edición. Argentina.
- 4.- Glaxo (1992). "Farmacovigilancia. Una responsabilidad compartida". Rdt. Churchill Livingstone. España.
- 5.- Remington (1990). "Farmacía". Tomo II. Edt. Médica Panamericana. 17a. edición. Argentina.
- 6.- Pelta Fernández, R. (1992). "Reacciones adversas medicamentosas. Valoración Clínica". Ediciones Díaz de Santos, S.A. España.
- 7.- Naranjo, Plutarco. (1968). "Manual de Farmacognosología". Edt. La Prensa Mexicana México.
- 8.- Van, Barba Mc. R. N. (1995). "Referencias Farmacéuticas". Edt. El Manual Moderno. México.
- 9.- Vargas Domínguez, Armando (1989). "Gastroenterología". Edt. Interamericana. México.
- 10.- Martínez P. Adolfo (1989). "Amibiasis". Edt. Panamericana. México.
- 11.- Gutiérrez, Kumate, Santos Muñoz (1990). "Manual de Infectología". 12a. edición. México.

- 12.- Sleisenger H., Fordtran S. (1978). "Tratado de Gastroenterología". Edt. Nueva Interamericana. 1era. edición. México.
- 13.- Orozco, E.; Pérez, D.G.; Gómez M.C. and Ayala P. "Multidrug resistance in Entamoeba histolytica". Parasitology today. Reference edition 1995. Vol. 11. december.
- 14.- Martínez Baez (1976). "Manual de Parasitología Médica". Edt. La Prensa Mexicana. 2a. edición. México.
- 15.- "Enfermedades tropicales en México. Diagnóstico, tratamiento y distribución geográfica". Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos; Manuel Martínez Baez del S.S. 1era. impresión. 1994. México.
- 16.- "Vacunas, Ciencia y Salud". Secretaría de Salud. Subsecretaría de coordinación y desarrollo. 1era. impresión. 1992. México.
- 17.- Brown Harold W. (1977). "Parasitología Clínica". Edt. Interamericana. 4a. edición. México.
- 18.- Beaver, Paul Chester (1986). "Parasitología Clínica". Salvat editores. 2a. edición. España.
- 19.- Botero, David. (1992). "Parasitosis humanas". Corporación para investigaciones biológicas. 2a. edición. Colombia.
- 20.- L. Jendrassik y P. Grof Biochem; 2(1963) 297: 81.
- 21.- L. Berger y G.N. Rudolph (1963). "Alkaline phosphatase standards method of clinical chemistry". Vol. 5. De. by Meites. Academic Press. New York, USA.
- 22.- M. Glosmann and D.M. Neville (1972). "Gamma-glutamyl transferase in kidney brush border membranes". Febs Lett. 19(4), 340 - 344.

- 23.- Reitman, S; Frank, S.A. "A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic pyruvic an glutamic pyruvic transaminases". Am. J. Clin.Pathol. 1957;28:56-63.
- 24.- Buege J.A. & S.P. Austin. "Methods in Enzimology" (30) LII, 302,1978.
- 25.- Sattler, Louis; Zervan F.W. "The Dreywood antrone reaction as affected by carbohydrate structure". Science, August 27, 1984, vol. 108.
- 26.- Rojkind M. and González E. "An improved method ford determining specific radioactivities of proline -<sup>14</sup>C and hidroxyprolina -<sup>14</sup>C in collagen and in non collagenous proteins". Analytical Biochemistry 57, 1-7 (1974).
- 27.- Venning Gr. Med. J. 1983;286. "Identification of adverse reactions to new drug. I what have been the important adverse reactions since Thalidomide".
- 28.- Informe mensual IM83-6 Subdirección de sistemas y procesamientos de la información Dirección General de servicios de salud pública en el D:F: 1994.
- 29.- Laboratorios de investigación Rhone-Poulenc Rores. Estudios sobre Secnidazol. Francia.
- 30.- Willis A.T. "Una visión orientativa sobre secnidazol". Excerpta Médica Communications B.V., XVI Congreso Internacional de Quimioterapia, Junio 1989. Jerusalem , Israel.
- 31.- 1982 - 1995. Roy Pharm. Soc. B. All rights reserved, vol. 83.
- 32.- Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. PLM: 41a. edición. 1995.
- 33.- Soedin K., Syukran O.K., Fadillah A., Sidabutar P., "Comparason between the efficacy of a single dose of secnidazole with a 5-day course of tetracycline and clloquinol in the treatment of acute intestinal amebiasis". Pharmatherapeutica, 4,1985.

- 34.- García Valdecasas F. "Farmacología". Edt. Espaxs. 7a. edición. España.
- 35.- Botero D., Abreu Martín L. "Eficacia y seguridad del tratamiento con Secnidazol en monodosis en el tratamiento de la amebiasis intestinal aguda no complicada en Latinoamérica: un estudio multicéntrico: Colombia, México, Brasil". Edt. Excerpta Médica. XVI Congreso Internacional de Quimioterapia. 1989. Jerusalem, Israel.
- 36.- Soedin K. "Dosis única de secnidazol vs la combinación de tetraciclina clloquine en una pauta de 5 días en el tratamiento de la amebiasis intestinal, Indonesia". Edt. Excerpta Médica. XVI Congreso Internacional de Quimioterapia. 1989. Jerusalem, Israel.
- 37.- Buegue J.A. and S.D. Austin. "Methods in enzymology" (1978)30 (LII)302.
- 38.- Amadeo J. Pesce, Kaplan A. Lawrence (1991). "Química Clínica". Edt. Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina.
- 39.- Karmen Arthur, Wróblewski F. and S. Laude J. (1954). "Transaminase activity in human blood". USA.
- 40.- Wayne W. Daniel (1985). "Biostatística. Base para el análisis de las ciencias de la salud". Edt. Limusa. México.
- 41.- Flores Bonilla Ma. Guadalupe. (1994). "Estudio de las reacciones adversas provocadas por secnidazol y quinfamida en comparación con las reacciones adversas provocadas por emetina en ratas wistar". Tesis. Q.F.B. UNAM. Cuautitlán Izcalli Edo. de México.
- 42.- Barrios Gallegos, Gumaro Dr.; Torrescano G. A. Dr. Dirección General de Epidemiología S S A. 1995.
- 43.- "Adverse drug reactions:the San Juan Department of veterans affair medical center experience". Hospital Pharmacy. Vol. 29.No.3. 1994.



- 44.- LoebI, Suzzane (1986). "Manual de Farmacología". 1a. edición. Edt. Limusa México.
- 45.- Murray K. Roberts, Mayes A. Peter, Granner K. Daryl. (1994) "Bioquímica de Harper". 13a. edición. Edt. El Manual Moderno. México, D.F.
- 46.- "Acta bioquímica clínica latinoamericana". Vol. XII, Núm. 4, 369-388, 1997. Incorporada al Chemical Abstract Service.
- 47.- Reynolds, James E.F. "Martindale The Extra Pharmacopoeia". Twenty-ninth edition. The Pharmaccetical Press. England.