

REVISTA FACULTAD DE
FARMACIA

Volumen 88

N° 1

2025

ISSN: 0041-8307



Azadirachta indica A. Juss



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

Revista Facultad de Farmacia Universidad Central de Venezuela

Vol. 88 - N° 1 - 2025

ISSN: 0041-8307

ISSN-e: 2739-0373

Depósito legal: 195902 DF 224
Caracas/Venezuela

Universidad Central de Venezuela

Rector

Dr. Víctor Rago

Vicerrectora Académica

Dra. María Fátima Garcés

Vicerrector Administrativo

Dr. José Balbino León

Secretaria

Dra. Corina Aristimuño

Facultad de Farmacia

Decano (E)

Dr. Michel Mijares

Directora Administrativa

Dra. María Isabel Calderón

Coordinadora Académica

Prof. Noris Vera

Directora del Instituto de Investigaciones Farmacéuticas

Dra. María Gabriela Matos

Director de Postgrado

Dr. Michael Mijares

Coordinadora de Extensión

Esp. Marisol Gómez

Indexada en LILACS, Latindex y Revencyt



Diagramación y montaje en línea

Yraiceles Jiménez (yrajimenez@gmail.com)

Dirección

Facultad de Farmacia UCV - Apartado 40.109
Caracas 1040-A - Venezuela

Portada: Facultad de Farmacia,
Universidad Central de Venezuela

Contenido

COMITÉ EDITORIAL II

Determinación de la actividad antimalárica de cloroquina con extracto acuoso <i>Azadirachta indica</i> A. Juss en ratones infectados con <i>Plasmodium berghei</i> MARÍA E ACOSTA, NEIRA GAMBOA DE DOMÍNGUEZ, MARÍA A OSUNA	5
Uroanálisis en embarazadas atendidas en el laboratorio central del Hospital del Tórax Julio Criollo Rivas de Ciudad Bolívar, Venezuela MERCEDES E ROMERO HERNÁNDEZ, GENESIS J PALMARES ORTIZ, GLORIA P MARDENI KHAYAT	15
Discinesia tardía, aspectos fisiopatológicos y tratamiento REYES A ZERPA URDANETA, MARGARITA SALAZAR-BOOKAMAN	26
Antimalarial activity of aqueous extract from the species <i>Plectranthus amboinicus</i> (Lour.) Spreng growing in Venezuela MARÍA E. ACOSTA, NEIRA GAMBOA, MARÍA A. OSUNA, KATIUSKA CHÁVEZ, ALÍRICA I. SUÁREZ	42
Cloruro de potasio y su impacto fisiológico adverso sobre el modelo larvario del mosquito <i>Aedes aegypti</i> en el protocolo <i>Aa-Global-Tox</i> AURORA V. BARRIOS RUDAS, MARCO A ÁLVAREZ OCHOA, ELIANA NAVARRO SCIOSCIA, MARÍA I. RAMOS MORILLO	52
Perfil de uso de anticoagulantes en pacientes hospitalizados en un centro de salud privado en la ciudad de Caracas, Venezuela MARÍA E PORTILLO R, LESBIA MUÑO	62
Evaluación <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> de parámetros toxicológicos de la cloroquina y el extracto acuoso de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss MARÍA E ACOSTA, NEIRA GAMBOA DE DOMÍNGUEZ, MARÍA A OSUNA	71
Información sobre el suministro y estandarización de medicamentos para el tratamiento de influenza y COVID-19 en Ecuador JHON E. LANDETA MALDONADO	87
Efecto de la L-arginina sobre la dimetilarginina asimétrica y el óxido nítrico en la aterosclerosis LETICIA FIGUEIRA, JULIO CÉSAR GONZÁLEZ	98
NORMAS DE PUBLICACIÓN	116



Esta Revista se publica bajo el auspicio del
Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico
Universidad Central de Venezuela.



CDCH-UCV

www.cdch-ucv.net

publicaciones@cdch-ucv.net

Revista de la Facultad de Farmacia

Comité Editorial

Editora

Dra. Anita Stern Israel
Facultad de Farmacia UCV,
Email: astern88@gmail.com
ORCID: 0000-0003-1812-0759

Comité Editorial Institucional

Dra. María Margarita Salazar-Bookaman
Facultad de Farmacia, UCV,
Email: mmsalazarb@gmail.com
ORCID: 0000-0002-4439-9856

Dra. Alírica Suárez
Facultad de Farmacia, UCV,
Email: alirica1@yahoo.es
ORCID: 0000-0002-3317-5179

Dr. Jaime Charris
Facultad de Farmacia UCV,
Email: charrisjaime@gmail.com
jaime.charris@ucv.ve
ORCID: 0000-0003-4404-2619

Dra. Isabel Andueza
Facultad de Farmacia UCV,
Email: ianduezaiif@gmail.com
ORCID: 50000-0002-1585-862X

Dr. David De Souza
Facultad de Farmacia UCV,
Email: jodav23@yahoo.com

Dra. Miriam Regnault
Facultad de Farmacia UCV,
Email: miriamregnault@gmail.com

Comité Editorial Nacional e Internacional

Dr. Jorge Angel
Facultad de Química, Universidad
del Zulia, Venezuela.
E-mail: ja116ag@gmail.com
ORCID: 0000-0002-2423-3285

Dr. Gustavo Benaim.
Instituto de Estudios Avanzados – IDEA. Instituto
de Biología Experimental – IBE. Venezuela.
E-mail: gbenaim@gmail.com
ORCID: 0000-0002-9359-5546

Dr. Marco Antonio Álvarez.
Sección de Microscopia, Instituto Anatómico
José Izquierdo, Facultad de Medicina, UCV.
E-mail: alvarezmenator@gmail.com.
ORCID: 0000-0002 1781-4532

Dr. Carlos Cabrera-Lozada
Maternidad Concepción Palacios. Venezuela.
Academia Nacional de Medicina.
E-mail: carloscabreralozada@gmail.com
ORCID: 0000-0002-3133-5183

Dr. Enrique López-Loyo
Facultad de Medicina, Escuela Vargas. UCV.
Academia Nacional de Medicina.
E-mail: lopezloyoe@gmail.com
ORCID: 0000-0002-3455-5894

Dra. Maritza Padrón
Cátedra de Farmacología y Toxicología
del Departamento de Ciencias Fisiológicas
de la Escuela Luis Razetti, Facultad de Medicina, UCV.
E-mail: mapa2111@gmail.com.
ORCID: 0000-0001-5333-8097

Dra. Lorena Cudris Torres
Universidad Popular del Cesar, Universidad Simón Bolívar,
Universidad de Santander, Universidad Antonio Nariño,
Colombia. E-mail: lcudris3@cuc.edu.co
ORCID: 0000-0002-3120-4757

Dr. Juan Bautista De Sanctis
Palacký University, Olomouc, República Checa,
E-mail: juanbautista.desanctis@upol.cz
ORCID: 0000-0002-5480-4608

Dra. Ana María Castejon
Universidad Nova Southeastern, Faculty of Pharmacy. USA.
E-mail: castejon@nova.edu
ORCID: 0000-0002-9402-1173

Dr. Simón López D'Sola
University of Florida. Gainesville, Florida. USA.
Email: simondl@gmail.com
ORCID: 0000-0002-4326-129X

Dra. Edelma Ros
Química Farmacéutica.
Asociación Uruguaya de Ciencias Cosméticas.
Asociación de Química y Farmacia de Uruguay. Uruguay.
E-mail: edelmaros@gmail.com

Dra. Jenny Saturno
Universidad Norbert Wiener,
Universidad del Atlántico Barranquilla, Colombia.
E-mail: jf.saturno@javeriana.edu.co
ORCID: 0000-0003-0619-8858

Dra. Yaira Mathison
Clinical Research Associate, Instituto de Investigación del
Hospital Santa Creu i Sant Pau. Barcelona, Cataluña, España.
E-mail: mathisony@gmail.com



Determinación de la actividad antimalárica de cloroquina con extracto acuoso *Azadirachta indica* A. Juss en ratones infectados con *Plasmodium berghei*

Determination of the antimalarial activity of chloroquine with aqueous extract of the leaf of *Azadirachta indica* A. Juss in mice infected with *Plasmodium berghei*

MARÍA E ACOSTA^{*1}, NEIRA GAMBOA DE DOMÍNGUEZ^{*2}, MARÍA A OSUNA^{**3}

Resumen

La Organización Mundial de la Salud (OMS), recomienda la administración de combinaciones entre antimaláricos convencionales entre sí, con otros de distinta indicación terapéutica, y con plantas medicinales por sus efectos pleiotrópicos. En virtud de tal contexto, en este trabajo, se propone evaluar el potencial antimalárico de la Cloroquina (CQ), quinolina usada en el tratamiento de la malaria, y su combinación con el extracto acuoso de la hoja de *Azadirachta indica* A. Juss (NEEM), con la finalidad de potenciar la actividad antimalárica de la CQ. A tales efectos, utilizando el modelo de infección no patente de ratones de la cepa INH con *Plasmodium berghei*, se ensayaron las distintas combinaciones CQ20 mg/Kg + EAN 10mg/Kg (CQ20+EAN10) y la CQ 20mg/Kg + EAN 20mg/Kg (CQ20+EAN20) utilizando la Prueba de Peter, según la cual los ratones infectados con *Plasmodium berghei* (10^6 parásitos por ratón, vía i.p.), se trataron con las combinaciones en estudio durante 5 días (1 dosis diaria, por 5 días, vía i.p.), iniciando el tratamiento 2 horas post infección. Se determinó el porcentaje de parasitemia al 5^{to} día post infección, y se registró los días de sobrevivencia de los animales infectados y tratados (DSP), comparados con los controles infectados y no tratados, durante 30 días. Las combinaciones (CQ20+EAN10) y (CQ20+EAN20) resultaron igual de efectivas que la CQ20 de forma individual, para disminuir la parasitemia y aumentar la sobrevivencia de los animales infectados con *Plasmodium berghei*, lo que sugiere que el EAN no posee actividad antimalárica ni potencia el efecto de la CQ.

Palabras clave: *Plasmodium berghei*, Cloroquina, Extracto acuoso, *Azadirachta indica* A. Juss, Neem, Actividad Antimalárica

Abstract

The World Health Organization (WHO) recommends the administration of combinations of conventional antimalarials with each other, with other drugs with different therapeutic indications, and with medicinal plants due to their pleiotropic effects. In this context, this study aims to evaluate the antimalarial potential of chloroquine (CQ), a quinoline used in the treatment of malaria, and its combination with the aqueous extract of the leaf of *Azadirachta indica* A. Juss (NEEM), to enhance the antimalarial activity of CQ. For these purposes, using the non-patent infection model of mice of the INH strain with *Plasmodium berghei*, the different combinations CQ20 mg/Kg+EAN 10mg/Kg (CQ20+EAN10) and CQ 20mg/Kg +EAN 20mg/Kg (CQ20+EAN20) were tested using the Peter test, according to which mice infected with *Plasmodium berghei* (10^6 parasites per mice, i.p.), were treated with the combinations under study for 5 days (1 daily dose, for 5 days, i.p.), starting treatment 2 hours post infection. The percentage of parasitemia was determined on the fifth day post-infection, and the days of survival of the infected and treated animals (DSP) were recorded and compared with the infected and untreated controls, for 30 days. The combinations (CQ20+EAN10) and (CQ20+EAN20) were equally effective as CQ20 individually in reducing parasitemia and increasing the survival of animals infected with *Plasmodium berghei*, suggesting that EAN does not have antimalarial activity, nor does it enhance the effect of CQ.

Keywords: *Plasmodium berghei*, chloroquine, aqueous extract, *Azadirachta indica* A. Juss, Neem, antimalarial activity

*Unidad de Bioquímica. Facultad de Farmacia. UCV; **Escuela José María Vargas Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela . Correspondencia: mariuacosta0103@gmail.com

Orcid: [0000-0003-0721-0046](https://orcid.org/0000-0003-0721-0046)

[0000-0002-9918-0413](https://orcid.org/0000-0002-9918-0413)

[0009-0007-7077-7658](https://orcid.org/0009-0007-7077-7658)

DOI: [10.54305/RFFUCV.2025.88.1-2.2](https://doi.org/10.54305/RFFUCV.2025.88.1-2.2)

Disponible: http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_ff

Recepción: 09/04/2025

Aprobación: 20/04/2025

Rev. Fac. Farmacia 88(1): 05-14. 2025

Introducción

La malaria es una enfermedad infecciosa aguda y crónica de carácter endemo-epidémica, causada por un parásito del género *Plasmodium* spp., de los cuales existen más de 175 especies y sólo cinco de ellas infectan al hombre: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale* y *Plasmodium knowlesi*, siendo el *Plasmodium falciparum* el causante de la forma más severa de la enfermedad (Oghenesuvwe y col., 2021).

El tratamiento de la malaria descansa fundamentalmente en el uso de un número limitado de fármacos; que presentan en su mayoría restricciones desde el punto de vista farmacológico, toxicológico y a los cuales, el *Plasmodium* ha desarrollado resistencia. La Organización Mundial de la Salud (OMS, 2023) reportó que en las zonas tropicales existe una prevalencia de la enfermedad de más de 219 millones de casos sintomáticos y se proyecta unas 435.000 muertes, siendo, la población más susceptible los menores de cinco años y las mujeres embarazadas. En América, hubo 568.000 casos de malaria y cerca de 220 muertes y se considera que cerca de 132 millones de personas viven en áreas de riesgo de contraer malaria. Actualmente, se abren nuevas expectativas para el desarrollo de antimaláricos, como el descubrimiento del genoma, la biología molecular, el modelaje molecular, el reposicionamiento de fármacos y las combinaciones farmacológicas (Acosta y Gamboa, 2017).

Los fármacos más usados para el tratamiento antimalárico son: las 4-aminoquinolinas (quinina, cloroquina (CQ), amodiaquina, tafenoquina), las 8-amino-

quinolinas (Primaquina, mefloquina, halofantrina), los inhibidores del metabolismo del folato (Sulfonamidas y sulfonas, pirimetamina, proguanil), antibióticos (quinolonas, macrólidos), endoperóxidos relacionados con artemisinina (Artesunato, artemeter, dihidroartemisina, artemisina), y la hidroxinaftoquinona (Atovaquona) (Oghenesuvwe y col., 2021).

Entre los compuestos quinolínicos usados actualmente, de cuyo núcleo farmacofórico se tienen referencias que datan de hace más de dos siglos, se encuentran la cloroquina, amodiaquina y la mefloquina. La OMS recomienda el uso combinado de fármacos para el tratamiento de la malaria no complicada por *Plasmodium falciparum*, con la finalidad de incrementar la eficacia terapéutica.

Las combinaciones de fármacos más utilizadas de comprobada efectividad son: Sulfadoxina+pirimetamina, sulfadoxina + pirimetamina+amodiaquina, artesunato + amodiaquina, artesunato+mefloquina (Artequin[®]), artesunato + amodiaquina (Arsucam[®]), artemeter + lumefantrina (Coartem[®]), artesunato+sulfadoxina+pirimetamina (Oghenesuvwe y col., 2021; OMS, 2023).

Adicionalmente, la Organización Mundial de la Salud (OMS) se ha planteado a través de la Estrategia Antimalárica 2016-2030, aplicar nuevas directrices de control, entre las que se incluyen el desarrollo de vacunas, el control vectorial y la síntesis de fármacos antimaláricos efectivos y seguros, así como mejorar la eficacia terapéutica de los fármacos antimaláricos convencionales ya existentes, encontrar nuevos blancos de acción y el uso de combinaciones de fármacos a fin de garantizar sinergismo y

potenciación antimalárica, con la finalidad de destruir los parásitos resistentes o retardar el desarrollo de resistencia, debido a mecanismos moleculares que han puesto en marcha los parásitos del género *Plasmodium* (OMS, 2023).

En este sentido se han evaluado las combinaciones entre antimaláricos convencionales entre sí, o con fármacos que presenten una indicación terapéutica distinta, tales como antibióticos (Siribhadra y col., 2022), antihistamínicos (George y col., 2022), bloqueantes de los canales de calcio (Martiney, 1995), antipiréticos (Deharo y col., 2003; Acosta y Gamboa, 2017) y el uso de plantas medicinales con propiedades antioxidantes (Dkhil, 2021); todo ello con la finalidad de revertir la resistencia a las aminoquinolinas, fundamentalmente, o potenciar el efecto antimalárico empleado en la combinación. Además de ser más accesibles y con menor costo.

Azadirachta indica A. Juss., también conocida como Neem, margosa, nintree o lila india, es un árbol tropical y perenne originario de la India y Birmania. Es un miembro de la familia de las meliáceas, la misma de la caoba. Recientemente, se ha demostrado que los extractos derivados del Neem funcionan en diversos ámbitos, desde repelente de insectos hasta suplementos para reducir la inflamación, controlar la diabetes e incluso combatir el cáncer. En una revisión exhaustiva reciente acerca de las actividades antimaláricas de varias plantas medicinales africanas se encontró que los extractos de la planta *Azadirachta indica* A. Juss., conocida como Neem, obtuvieron buenos resultados en todos los ensayos realizados (Tajbakhshy col., 2021). Los estudios *in vitro* e *in vivo* indican que los extractos acuosos, metanólicos o etanólicos de tallos, hojas o corteza de

Neem presentan una actividad antimalárica significativa contra las cepas de *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium berghei*, además de disminuir los efectos tóxicos producidos por la infección (Tepongning y col., 2018). Aunque el área de investigación sobre Neem como antiparasitario está relativamente poco desarrollada, la mayoría de las investigaciones publicadas hasta el momento se han centrado en *Plasmodium* (Rathod y col., 2022).

Además de su uso como antimalárico, la planta posee una serie de efectos pleiotrópicos, entre los que destacan: en enfermedades de la piel, úlceras gástricas y duodenales, constipación, reumatismo, antiinflamatorios, hipolipemiente, anticancerígeno, antiviral, antibacteriano, antiparasitario, antifúngico, nefroprotector y hepatoprotector (Alzohairy y col., 2016; Deshpande y col., 2014, Islas y col., 2020; Sarkar y col., 2022).

Dentro de este contexto, en el presente estudio se evaluó la actividad antimalárica de las combinaciones del extracto acuoso de las hojas de *Azadirachta indica* A. Juss. (EAN) con el fármaco antimalárico cloroquina (CQ). La selección de EAN, se basó en sus efectos antimaláricos, antimicrobianos, antioxidantes, inmunomoduladores, antipiréticos, analgésicos, antiinflamatorios, antidiabéticos, estimulador del apetito y diurético (Iwalewa y col., 1999; Sujarwo y col., 2016; Rathod y col., 2022).

Materiales y Métodos

ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Se utilizaron ratones macho con pesos comprendidos entre 18-20 g de la cepa INH, provenientes del Instituto Nacional

de Higiene Rafael Rangel (MPPS, Caracas). Los animales fueron mantenidos en cajas plexiglás en ciclos de 12 horas luz / oscuridad, con agua y alimento (Ratarina®) *ad libitum*. La investigación cumplió con las normas de bioética contenidas en la Guía Principles of Laboratory Animal Care (Principios de cuidados de animales de laboratorio) (Anónimo, 1985).

Se utilizó *Plasmodium berghei* (cepa ANKA) sensible a CQ, la cual fue mantenida, mediante pasajes sucesivos de ratones infectados a ratones sanos.

Como fármaco se usó la Cloroquina (CQ) procedente de la casa comercial SIGMA-Aldrich Chemical Co. Lote 109H1097. La dosis de CQ se seleccionó en base a estudio *in vivo* en ratones (Acosta y col., 2022), en el cual la CQ posee efectos antimaláricos a las dosis de 20 mg/Kg de peso corporal, por vía i.p.

Para los tratamientos, se utilizaron las siguientes combinaciones, CQ 20 mg/Kg; + EAN (10 y 20 mg/Kg). Estos tratamientos se prepararon diluyendo los compuestos apropiadamente en solución NaCl 0,9%. Ambos compuestos fueron administrados a los animales por vía i.p. de forma separada.

Recolección de Plantas NEEM

Las muestras de las plantas *Azadirachta indica* A. Juss "NEEM" fueron recolectadas en la comunidad Provincial, localidad de Puerto Ayacucho, estado Amazonas. Un espécimen testigo reposa en el Herbario Víctor Manuel Ovalles, de la Facultad de Farmacia, de la Universidad Central de Venezuela, bajo el número MYF 29534.

PROCEDIMIENTO DEL EXTRACTO ACUOSO LIOFILIZADO DE LA HOJA DE *Azadirachta indica* A. JUSS

Las hojas frescas (30 g) fueron cortadas en trozos pequeños y sometidas a decocción en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, utilizando 50 mL de agua destilada. El proceso de decocción se mantuvo durante 15 minutos, la solución fue filtrada, enfriada y sometida a un proceso de liofilización para obtener un sólido marrón claro (95 g) que fue reconstituido en agua destilada al momento del experimento. Este extracto fue denominado extracto acuoso de *Azadirachta indica* A. Juss (EAN). Se seleccionaron las dosis de 10 y 20 mg/Kg porque coincide con estudios *in vivo* en ratones a esas dosis por vía i.p. (Akin-Osanaiyay col., 2013).

INFECCIÓN DE RATONES

Los ratones fueron infectados vía i.p., con 1×10^6 eritrocitos parasitados diluidos en solución fisiológica (NaCl 0,9%). El curso temporal de la parasitemia se monitoreó a través del extendido de sangre periférica de animales infectados, coloreados con Giemsa y observados por microscopía de luz. Brevemente, una gota de sangre extraída de una incisión transversal del extremo de la cola del ratón infectado se colocó en una lámina portaobjetos. Con la ayuda de otra lámina, se realizó el extendido fino y uniforme de la sangre a lo largo de la misma, mediante desplazamiento, con una inclinación de 45°. El extendido seco y fijado con metanol y calor, se coloreó con Giemsa (1:1) (Alger, 1999), mediante la técnica de inversión, durante 20 minutos, se lavó con agua destilada para retirar el exceso de colorante y se dejó secar. Las

láminas se observaron por microscopía de luz con un objetivo 100X en aceite de inmersión. Se contaron al menos 5 campos (aproximadamente 500 glóbulos rojos), se determinó la parasitemia y se expresó en términos de porcentaje (eritrocitos infectados por cada 100 eritrocitos).

ACTIVIDAD ANTIMALÁRICA

El tratamiento de los animales sin infección patente se realizó mediante la prueba de Peter (1975). El diseño experimental incluyó los siguientes grupos:

1. Grupo control sano: Animales sanos que recibieron 0,1 mL de solución fisiológica (NaCl 0,9%) por vía i.p., durante 5 días.
2. Grupos controles infectados: Animales infectados con *Plasmodium berghei* de acuerdo al protocolo, los cuales recibieron 0,1 mL de solución fisiológica (NaCl 0,9%), por vía i.p. El día 5 post-infección se determinó la densidad parasitaria mediante el examen microscópico de extendidos de sangre extraída de la cola del animal. Adicionalmente, se llevó un registro de los días post-infección (DSP).
3. Grupos infectados con tratamiento:

Los subgrupos incluidos y los tratamientos administrados a los ratones infectados fueron los siguientes:

No.	Sub-GRUPO	TRATAMIENTO (i.p / día)
1	CQ20	CQ 20 mg/Kg
2	EAN 20	EAN 20 mg/Kg
3	EAN 10	EAN 10 mg/Kg
4	CQ20 + EAN 20	CQ 20 mg/Kg + EAN 20mg/Kg
5	CQ 20 + EAN 10	CQ 20 mg/Kg + RVT 10 mg/Kg

Cada ratón fue tratado con 0,1 mL del tratamiento indicado. Ratones macho de la cepa INH de peso comprendido entre 18–20 g, se infectaron mediante inoculación por vía i.p. con una densidad parasitaria de 1×10^6 y dos horas después de la infección, se inició el tratamiento de los ratones, de cada sub-grupo, una vez al día, durante 5 días. Cada ratón fue tratado con 0,1 mL del tratamiento indicado. El día 5 post-infección y post- tratamiento, se determinó la densidad parasitaria mediante el examen microscópico de extendidos de sangre extraída de la cola del animal. Adicionalmente, se llevó un registro de los días post- infección (DSPI).

La eficacia de los tratamientos ensayados fue evaluada calculando el porcentaje de reducción de la parasitemia de acuerdo a la ecuación (Cui y col., 2015):

$$\% \text{ Reducción} = \frac{C - T}{C} \times 100$$

C = % Parasitemia del control infectado (Control negativo) T= % Parasitemia del grupo tratado

FORMA DE TRATAMIENTO Y SACRIFICIO DE LOS ANIMALES

Los animales fueron tratados por vía i.p., una vez al día, durante 5 días consecutivos. En el día 5° de tratamiento, se tomaron al azar 5 ratones de cada uno de los grupos experimentales establecidos. Una vez anestesiados con éter, se procedió a obtener muestras de sangre del plexo axilar para la respectiva separación del suero sanguíneo.

Análisis Estadístico

Los resultados obtenidos fueron expresados como la media \pm error estándar

de la media (E.E.M), analizados mediante la Prueba t de student de datos no apareados, y el análisis de varianza (ANOVA) de una vía. Los resultados fueron analizados y graficados mediante el uso del programa GraphPad Prism versión 9.0 y programa Excel 2010. Se consideraron estadísticamente significativos valores de $p < 0,05$.

Resultados

ACTIVIDAD ANTIMALÁRICA

La actividad antimalárica de las combinaciones de CQ con EAN a las diferentes concentraciones/dosis, *in vivo*, se realizó mediante el uso de la Prueba de Peters, un modelo de infección no patente en el que se sometieron a estudio los compuestos individuales o sus combinaciones: CQ20, EAN 20, EAN 10, CQ20+EAN20 y CQ20+EAN10.

CURVA DEL CURSO TEMPORAL DE LA INFECCIÓN EN RATONES INH CON *Plasmodium berghei*

Se realizó una curva de parasitemia para observar el curso de la infección experimental por *Plasmodium berghei* y el comportamiento de la cepa de ratones INH, según las condiciones de laboratorio, con la finalidad de obtener valores de referencia para los experimentos subsiguientes.

En la Figura 1 se muestra la evolución de la parasitemia diaria de los animales inoculados con 10^6 eritrocitos infectados, por vía i.p. La primera fase de la curva, correspondiente a la fase de crecimiento aritmético que tuvo una duración de 4 días. Entre los días 7 y 12 se observa un crecimiento exponencial de la parasitemia a un valor máximo de $(98\% \pm 0,54)$ con la cual se produce la muerte de los ratones a partir el día $7 \pm 0,32$.

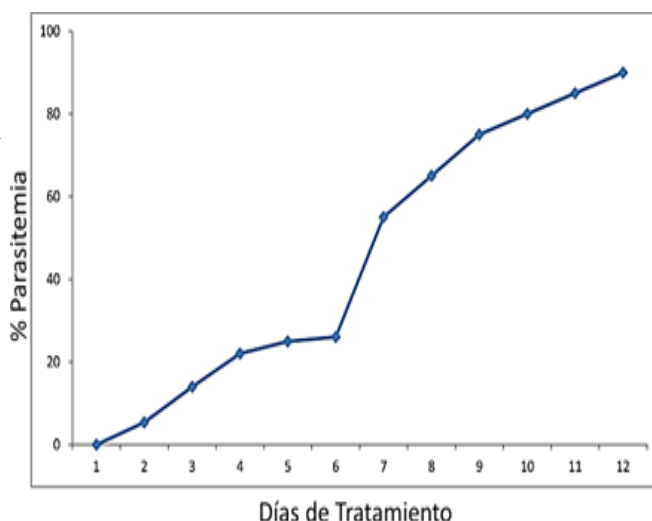


Figura 1. Curso temporal de infección de ratones INH por *Plasmodium berghei*. Los ratones ($n=5$) se inocularon por vía i.p con 10^6 eritrocitos infectados. Los puntos representan la media \pm E.E.M. La parasitemia máxima fue de $95\% \pm 0,75$, dato que será empleado en los siguientes experimentos como porcentaje de parasitemia por ratón fallecido.

EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMALÁRICO EN MODELO DE INFECCIÓN PATENTE (PRUEBA DE PETER)

En la Tabla I se muestran las modificaciones del porcentaje de parasitemia al 5^{to} día post-infección y de sobrevivencia de los ratones de los grupos de tratamiento, respecto al grupo control infectado (Tabla I, Figura 2). Como se observa, la CQ sola fue capaz de aumentar significativamente la supervivencia y reducir la parasitemia ($p < 0,05$). El tratamiento con EAN 10 y EAN 20 no alteró los valores de parasitemia y supervivencia en los ratones infectados con *Plasmodium berghei*, los cuales fueron comparables a los ratones infectados no tratados. El tratamiento con las combinaciones mostró valores similares y significativos a los observados con la CQ sola ($p < 0,05$), ya que redujeron la parasitemia y aumentaron la sobrevivencia de los ratones infectados con *Plasmodium berghei*, de al menos 14 a 30 días post-infección y post-tratamiento, de forma

Tabla I.

Modificaciones del porcentaje de parasitemia y días de supervivencia post-infección de ratones infectados con *Plasmodium berghei*, tratados con CQ, EAN y combinaciones de CQ y EAN

Tratamientos	Días de supervivencia ± E.E.M	% Parasitemia ± E.E.M
Control Infectado	8,2 ± 0,15	84,54 ± 0,90
CQ 20	29,40 ± 0,51**	0,23 ± 0,02**
EAN 10	8,50 ± 0,29	82,53 ± 0,40
EAN 20	10,24 ± 0,35	79,45 ± 0,20
CQ 20 + EAN 10	29,20 ± 0,40**	0,10 ± 0,04**
CQ 20 + EAN 20	29,60 ± 0,35**	0,08 ± 0,05**

Los resultados se expresan en % de parasitemia ± E.E.M (n=5). CQ 20=Cloroquina 20 mg/Kg; EAN10=Extracto Acuoso Neem 20mg/Kg; EAN20=Extracto Acuoso Neem 20mg/Kg. **p<0,05 con respecto al grupo control infectado

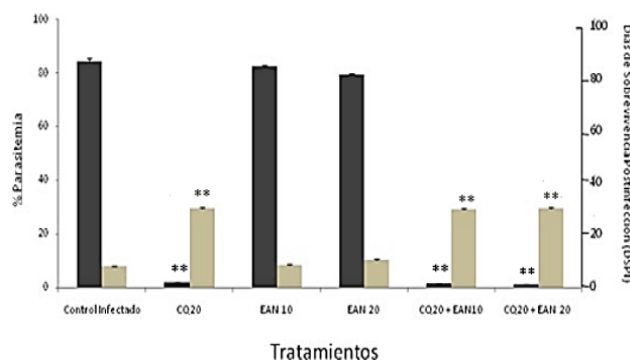


Figura 2. Curso temporal de infección de ratones INH por *Plasmodium berghei*. Los ratones (n=5) se inocularon por vía i.p con 10^6 eritrocitos infectados. Los puntos representan la media ± E.E.M. La parasitemia máxima fue de $95\% \pm 0,75$, dato que será empleado en los siguientes experimentos como porcentaje de parasitemia por ratón fallecido.

similar a cuando la CQ se ensaya de manera individual. Estos hallazgos sugieren que EAN no es un potencial antimalárico.

Para determinar la eficacia de los tratamientos ensayados se calculó el porcentaje de reducción de la parasitemia de acuerdo a la siguiente ecuación (Cui y col., 2015) (Tabla II).

$$\% \text{ Reducción} = \frac{C - T}{C} \times 100$$

C = % Parasitemia del control infectado (Control negativo) T= % Parasitemia del grupo tratado

CQ 20=Cloroquina 20 mg/Kg; EAN10= extracto acuoso Neem 10 mg/Kg; EAN 20=Extracto acuoso Neem 20 mg/Kg.

Tabla II.

Porcentaje de Reducción (Eficacia) de los tratamientos ensayados solos o en combinaciones

Tratamientos	% Reducción
CQ20	99,72
EAN 10	2,37
EAN 20	6,02
CQ20 + EAN 10	99,88
CQ20 + EAN20	99,90

Los resultados confirman que las combinaciones CQ20+EAN10 y CQ20+EAN20 presentan un porcentaje de eficacia elevada similar al de la CQ20. Uno de los objetivos que se persigue al combinar fármacos es mejorar los efectos terapéuticos y reducir la toxicidad del tratamiento. En este caso, la disminución de la dosis de EAN a 10 mg/Kg combinado con CQ20 mg/Kg muestra un porcentaje de reducción de la parasitemia similar a la obtenida con CQ20+EAN 20 y CQ20, lo que sugiere que las combinaciones no mejoran la eficacia antimalárica de la CQ (Tabla II).

Discusión

Los resultados del presente estudio en los que se evalúan los efectos antimaláricos de los compuestos CQ20, EAN20 y EAN10,

solos o combinados, (CQ20+EAN20 y CQ20+EAN10), sugieren que el EAN, *per se*, no es un agente antimalárico potencial, ya que administrados solos no altera la supervivencia ni el grado de parasitemia. Aún más, el tratamiento de los ratones infectados con *Plasmodium berghei* con las combinaciones mostraron resultados similares en magnitud con los obtenidos con CQ20, ya que las combinaciones fueron capaces de reducir la parasitemia y producir la cura parasitológica de los animales a los 30 días de observación; además de producir un aumento de los días de supervivencia post-infección (aproximadamente en un 80%), de manera similar a la CQ20. Además de ello, la combinación CQ20+EAN10 tiene una eficacia de 99,88% muy similar a la presentada por CQ20 (99,72%) y la combinación CQ20+EAN20 (99,90%). Estos hallazgos parecen indicar que EAN no genera una potenciación del efecto antimalárico de la CQ. Estos resultados difieren de lo reflejado en diversos estudios *in vivo* con extractos de hojas (Aka-Osanaiya y col., 2013; Afolabi y col., 2021) e *in vitro* en cultivos con *Plasmodium falciparum*, donde el EAN (tanto en forma de extracto como sintetizado en nanopartículas de nitrato de plata-Neem) potencia el efecto antimalárico de la CQ al inducir no solo la cura parasitológica en cepas sensibles y resistentes a CQ sino también en la reducción de la transmisión (Udeinya y col., 2006; Ghazali y col., 2022).

Esto podría deberse a que no se utilizó solventes orgánicos, como el cloroformo, acetona y etanol, para el aislamiento de compuestos químicos como alcaloides, terpenoides y sus derivados, con propiedades antioxidantes (Mbugi y col., 2021; Udeinya y col., 2008), pudiendo ser efectivos como antimalárico. En este

caso, el uso del extracto acuoso de la hoja fue debido a su extrapolación a las infusiones, las cuales son acuosas y se preparan por extracción con aplicación de calor, obteniendo tanto sus principios activos como sus componentes tóxicos, siendo útiles para el estudio farmacológico y toxicológico.

Otra posible explicación es que varias partes de la planta (hojas, corteza, raíces y semillas) presentan diferentes sustancias con distintas propiedades terapéuticas y que son propias de cada parte de la misma (Subapriya y col., 2005), lo que concuerda con los resultados contrastantes de los estudios de validación realizados con extractos de hojas y corteza de Neem (Tapanelli y col., 2016). Adicional a ello, está el uso de la vía oral como ruta de administración en la mayoría de los estudios de investigación para evaluar actividad antimalárica, contraria a la vía i.p. utilizada en este trabajo (Afolabi y col., 2021).

Este estudio es preliminar, representa una alternativa que debe ser profundizada con la finalidad contribuir a la prolongación de la vida útil de los recursos farmacoterapéuticos disponibles, retardar la expansión de la resistencia, y/o reducir la toxicidad generada por los mismos.

Conclusiones

Las combinaciones CQ20+EAN10 y CQ20+EAN20 resultaron ser efectiva para disminuir la parasitemia y aumentar la supervivencia de los animales infectados con *Plasmodium berghei*, de manera similar a la obtenida con el tratamiento con CQ20. Por lo tanto, la combinación CQ+EAN

actúa como un antimalárico similar a la CQ, lo que sugiere que el EAN no posee actividad antimalárica ni potencia el efecto de la CQ.

Agradecimientos

Agradecemos al Ministerio de Ciencia y Tecnología (MINCYT) por el financiamiento del Proyecto 2024PGP117.

Conflicto de interés

Los autores declaran que no existe conflicto de interés.

Referencias Bibliográficas

- Acosta ME, Gamboa de Domínguez, N. 2017. Potenciación del efecto antimalárico de combinaciones de cloroquina y mefloquina con acetaminofeno *in vivo* y niveles de glutatión total hepático. *Revista de La Facultad de Farmacia* 80(1 y 2):68-82.
- Acosta ME, Gotopo L, Gamboa N, Rodrigues JR, Henriques GC, Cabrera G, Romero AH. 2022. Antimalarial activity of highly coordinative fused heterocycles targeting β -hematin crystallization. *ACS Omega* 7(9):7499-7514.
- Akin-Osanaiya BC, Nok AJ, Ibrahim S, Inuwa HM, Onyike E, Amlabu E, Haruna E. 2013. Antimalarial effect of neem leaf and neem stem bark extracts on *Plasmodium berghei* infected in the pathology and treatment of malaria. *International Journal of Research in Biochemistry and Biophysics* 3(1):7-14.
- Afolabi OJ, Simon-Oke IA, Oladokun OI. 2021. Antiplasmodial activity of ethanolic extract of neem leaf (*Azadirachta indica*) in albino mice infected with *Plasmodium berghei*. *Int Arch Clin Pharmacol* 7:024.
- Alaribe SC, Oladipupo AR, Uche GC, Onumba MU, Ota D, Awodele O, Oyibo WA. 2021. Suppressive, Curative, and Prophylactic Potentials of an Antimalarial Polyherbal Mixture and its Individual Components in *Plasmodium berghei*-Infected Mice. *J Ethnopharmacol* 277:114105.
- Alger J. 1999. Diagnóstico microscópico de la malaria: gota gruesa y extendido fino. *Rev Med Hond* 67:216-8.
- Amadi PU, Agomuo EN, Ukaga CN, Njoku UC, Amadi JA, Nwaekpe CG. 2021. Preclinical Trial of Traditional Plant Remedies for the Treatment of Complications of Gestational Malaria. *Med (Basel)* 8(12):79.
- Alzohairy M. 2016. Therapeutics role of *Azadirachta indica* (Neem) and their active constituents in diseases prevention and treatment. *Evidence – Based Complementary and Alternative Medicine* 1:7382506-06.
- Deharo E, Barhkan D, Krugliak M, Golenser J, Ginsburg H. 2003. Potentiation of the malarial action of chloroquine in rodent malaria by drugs known to reduce cellular glutathione levels. *Biochemical Pharmacology* 66:809-817.
- Deshpande PK, Gothwal R, Pathak AK. 2014. Phytochemical analysis and evaluation of antimalarial activity of *Azadirachta indica*. *The Pharma Innovation* 3(9:Part A):12.
- Dkhil MA, Al-Quraishy S, Al-Shaebi EM, Abdel-Gaber R, Thagfan FA, Qasem M. A. 2021. Medicinal plants as a fight against murine blood-stage malaria. *Saudi Journal of Biological Sciences* 28(3):1723-1738.
- Ghazali SZ, Mohamed Noor NR, Mustaffa KMF. 2022. Anti-plasmodial activity of aqueous neem leaf extract mediated green synthesis-based silver nitrate nanoparticles. *Preparative Biochemistry & Biotechnology* 52(1):99-107.
- George UO, Ebong N, Adikwu E. 2022. Antiplasmodial activity of desloratadine-dihydroartemisinin-piperaquine on *Plasmodium berghei* infected mice. *Journal of Applied Biology and Biotechnology* 9(2):169-173.
- Iwalewa EO, Mohammed K, Omotola OO. 1999. Contributory Pharmacological Effects of *Azadirachta indica* leaf in the treatment of malaria. *Nigerian Journal of Natural Products and Medicine* 3:42-46.
- Islas JF, Acosta E, Zuca G, Delgado-Gallegos JL, Moreno-Treviño MG, Escalante B, Moreno-Cuevas JE. 2020. An overview of Neem (*Azadirachta indica*) and its potential impact on health. *Journal of Functional Foods* 74:104171.
- Igwenyi I, Eze A, Aja P, Elom S, Uraku A, Awoke J, Obasi NA. 2017. Cholesterol-lowering and hepatoprotective effect of fruit juice extract of *Azadirachta indica* on *Plasmodium berghei* infected mice. *Int J Curr Microbiol App Sci* 6(9):3367-3375.
- Martiney JA, Cerami A, Slater AF. 1995. Verapamil reversal of chloroquine resistance in the malaria parasite *Plasmodium falciparum* is specific for

- resistant parasites and independent of the weak base effect. *J Biol Chem* 270(38):22393-22398.
- Mbugi EV, Sife AS, Ruzegea M, Msoffe GEP, Daniel B, Kabyemela E, Lwoga E. T. 2021. Effectiveness of *Azadirachta indica* (Neem tree) on prevention and treatment of clinical human malaria: a systematic review. *East Africa Science* 3(1):34- 43.
- Oghenesuvwe EE, Chidozie I, Okeke AI, Chukwudike OC, Ukamaka MN, Maryann CU, Okonkwo OB. 2021. Antimalarial herbal drugs: a review of their interactions with conventional antimalarial drugs. *Clinical Phytoscience* 7:4.
- Organización Mundial de la Salud (OMS) World malaria report. Geneva; 2023. Consultado el 5/8/2023. Disponible en: <https://www.paho.org/es/temas/malaria>.
- Peters W, Portus JH, Robinson BL. 1975. The chemotherapy of rodent malaria, XXII: the value of drug-resistant strains of *P. berghei* in screening for blood schizontocidal activity. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology* 69(2):155-171.
- Rathod VS, Pawar PS, Gorde AB. 2022. A review on pharmacological importance of *Azadirachta indica*. *World Journal of Pharmaceutical Research* 11(4):412-419.
- Sarkar L, Oko L, Gupta, S, Bubak AN, Das B, Gupta P, Sarma JD. 2022. *Azadirachta indica* A. Juss bark extract and its Nimbin isomers restrict β -coronaviral infection and replication. *Virology* 569:13-28.
- Siribhadra A, Ngamprasertchai T, Rattanaumpawan P, Lawpoolsri S, Luvira V, Pitisuttithum P. 2022. Antimicrobial stewardship in tropical infectious diseases: focusing on dengue and malaria. *Tropical Medicine and Infectious Disease* 7(8):159.
- Sujarwo W, Keim AP, Caneva, G, Toniolo C, Nicoletti M. 2016. Ethnobotanical uses of neem (*Azadirachta indica* A. Juss.; Meliaceae) leaves in Bali (Indonesia) and the Indian subcontinent in relation with historical background and phytochemical properties. *Journal of Ethnopharmacology* 189:186-193.
- Subapriya R, Nagini S. 2005. Medicinal Properties of Neem Leaves: A Review. *Curr Med Chem Agents* 5(2):149-56.
- Tajbakhsh E, Kwenti TE, Kheyri P, Nezaratzade S, Lindsay DS, Khamesipour F. 2021. Antiplasmodial, antimalarial activities and toxicity of African medicinal plants: a systematic review of literature. *Malaria Journal* 20(1):1-50.
- Tapanelli S, Chianese G, Lucantoni L, Yerbanga RS, Habluetzel A, Taglialatela-Scafati O. 2016. Transmission blocking effects of Neem (*Azadirachta indica*) Seed Kernel Limonoids on *Plasmodium berghei* early sporogonic development. *Fitoterapia* 114:122-126.
- Tepongning RN, Mbah JN, Avoulou FL, Jerme MM, Ndanga EK, Fekam FB. 2018. Hydroethanolic extracts of *Erigeron floribundus* and *Azadirachta indica* reduced *Plasmodium berghei* parasitemia in Balb/c mice. *Evid Based Complement Alternat Med* 5156710.
- Udeinya IJ, Brown N, Shu EN, Udeinya FI, Quakeyie I. 2006. Fractions of an antimalarial neem-leaf extract have activities superior to chloroquine and are gametocytocidal. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology* 100(1): 17-22.
- Udeinya JI, Shu EN, Quakyi I, Ajayi FO. 2008. An antimalarial neem leaf extract has both schizonticidal and gametocytocidal activities. *American Journal of Therapeutics* 15(2):108-110.



Uroanálisis en embarazadas atendidas en el laboratorio central del Hospital del Tórax Julio Criollo Rivas de Ciudad Bolívar, Venezuela

Urinalysis in pregnant women treated at the central laboratory of the Julio Criollo Rivas Torax Hospital in Bolivar City, Venezuela

MERCEDES E ROMERO HERNÁNDEZ^{1*}, GENESIS J PALMARES ORTIZ^{2**}, GLORIA P MARDENI KHAYAT^{3**}

Resumen

La infección de las vías urinarias es la primera infección más común registrada en el entorno hospitalario y la segunda en la comunidad social, y se presenta frecuentemente en embarazada. El presente estudio tuvo como propósito determinar los hallazgos en el examen general de orina en embarazadas atendidas en el Laboratorio Central del Hospital del Tórax Julio Criollo Rivas de Ciudad Bolívar - estado Bolívar. El estudio fue de tipo descriptivo, experimental, prospectivo y de corte trasversal, y se realizó dando cumplimiento a cada uno de los procedimientos de evaluación de los parámetros físicos, químicos y microscópicos de la muestra. Se determinó cómo se encuentra la orina de las embarazadas en cada una de las etapas del uroanálisis, observando hallazgos importantes en cuanto a la presencia de infecciones urinarias como aspecto de alarma en el control prenatal, representando la etapa preanalítica parte fundamental en la calidad de la fase analítica y la veracidad de los resultados emitidos en la fase postanalítica.

Palabras clave: Uroanálisis, orina, embarazadas, infecciones urinarias

Abstract

Urinary tract infection is the most common infection recorded in hospital settings and the second most common in the community and is frequently seen in pregnant women. This study aimed to determine the findings in the general urine test in pregnant women treated at the Central Laboratory of the Julio Criollo Rivas Thoracic Hospital in Ciudad Bolívar, Bolívar state. The study was descriptive, experimental, prospective, and cross-sectional. It was carried out in compliance with each of the evaluation procedures for the sample's physical, chemical, and microscopic parameters. The urine of pregnant women was determined at each stage of urinalysis, observing important findings regarding the presence of urinary tract infections as an alarming aspect in prenatal care. The preanalytical stage represents a fundamental part in the quality of the analytical phase and the veracity of the results issued in the postanalytical phase.

Keywords: Urinalysis, urine, pregnant women, urinary tract infections

*Jefa del Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Núcleo Bolívar, **Licenciadas en Bioanálisis, Universidad de Oriente, Núcleo Bolívar. Correspondencia: genesispalmares@gmail.com

Orcid: [10009-0005-8568-1021](https://orcid.org/0009-0005-8568-1021)

[20009-0004-1254-9655](https://orcid.org/0009-0004-1254-9655)

[30009-0004-0574-4647](https://orcid.org/0009-0004-0574-4647)

Introducción

En la práctica médica diaria, es muy frecuente recibir gestantes con síntomas sugestivos de infección de las vías urinarias (IVU), que en el embarazo constituye una de las afecciones más frecuentemente encontradas. De hecho, la IVU es la primera infección más común registrada en el entorno hospitalario y la segunda en la comunidad social. Se ha estimado que más de un tercio de la población femenina experimenta al menos un episodio de infección urinaria a lo largo de su vida. Clínicamente, la IVU puede ser clasificada en bacteriuria asintomática (BA), cistitis aguda (CA) y pielonefritis aguda (PA). La fisiología renal presenta cambios significativos en el curso del embarazo normal, tanto en su anatomía como en su función. Estos cambios deben ser conocidos en profundidad por los médicos involucrados en el manejo adecuado de las IVU que se presentan en el embarazo, para que sus decisiones tengan fundamento científico y además resulten eficaces (Fretes y col., 2020).

El examen General de Orina (EGO) es un análisis crucial durante el embarazo. KidsHealth establece que se usa para confirmar el embarazo mediante la detección de la hormona gonadotropina coriónica humana (hCG) en la orina, y además sirve para detectar posibles complicaciones como infecciones urinarias. El EGO es un análisis que evalúa el aspecto, concentración y contenido de la orina para detectar diversas condiciones, proporcionando información importante sobre posibles afecciones que pudieran perjudicar el normal desarrollo del feto. Las infecciones urinarias, enfermedades renales y la diabetes son fácilmente detectables a través de este control (Vizquez Vizquez y col.,

2020). Por tanto, puede revelar la presencia de proteínas, azúcar o sangre en la orina, bacterias, además de minerales, hormonas u otras sustancias que puede indicar otras condiciones médica (King Strasinger y col., 2016; Kouri y col., 2017).

El propósito del presente estudio es determinar los hallazgos en el EGO en embarazadas atendidas en el Laboratorio Central del Hospital del Tórax Julio Criollo Rivas de Ciudad Bolívar - estado Bolívar, siguiendo las normas de calidad de cada una de las etapas desde la preanalítica hasta la postanalítica, tomando en cuenta los últimos avances científicos y dando cumplimiento a cada uno de los procedimientos que tienen que ver con la evaluación de los parámetros físicos, químicos y microscópicos de la muestra, para garantizar la emisión de resultados que se correlacionen con la condición clínica de la embarazada y para la toma de decisiones médicas correctas, en pro de garantizar la estabilidad feto-materna.

Este trabajo se realizó enfatizando el papel del bioanalista como agente de cambio social, orientando a la gestante en cuanto a la importancia de un control prenatal, explicando como una muestra de orina puede indicar el funcionamiento del organismo, y que el analista es capaz de interpretar todos los hallazgos encontrados en esa muestra para emitir resultados que se relacionen directamente con la condición médica, que permitan al médico tomar decisiones correctas.

Materiales y Métodos

MÉTODO

Recolección de datos: Se solicitó permiso a la Lcda. Marisol Mejías, jefa del

Laboratorio Central del Hospital del Tórax Julio Criollo Rivas de Ciudad Bolívar – estado Bolívar, para realizar el estudio de las variaciones que presentan las muestras de orina de embarazadas cuando se les realiza el EGO (Prieto y col., 2019).

Recepción de las Muestras: La recepción de las muestras de orina fue entre las 7:00 am a 9:00 am en el Laboratorio Central del Hospital del Tórax “Julio Criollo Rivas”, Ciudad Bolívar – estado Bolívar. El EGO fue realizado en las muestras de orina de la primera micción de la mañana (orina más concentrada), que fueron colectadas en un recipiente estéril, previo aseo genital, recolectadas por chorro medio y remitidas al laboratorio inmediatamente. Se recolectaron 119 muestras de orina durante el periodo mayo - junio 2022.

Evaluación de la Muestra: Primeramente, se inspeccionó el estado en que llega la muestra al laboratorio, revisando aspectos como: etiquetado, muestra apropiada, conservación apropiada, transporte, contaminación visible y a que área sería remitida según las pruebas solicitadas.

Examen Físico: Los parámetros físicos son de gran importancia y estos son: Color, Olor, Aspecto, Densidad, pH y presencia de Espuma (indicativo de proteínas). La muestra se recibió en el área de uroanálisis se homogenizó por inversión y se separaron de 10 a 15 mL en un tubo de ensayo limpio y estéril para registrar el color, olor, aspecto y peso específico.

Examen Químico: El análisis químico se realizó mediante tiras reactivas y por medio de macro técnicas confirmatorias. Antes de realizar el análisis con las tiras reactivas se separó una parte de la muestra de orina para que el reactivo de la tira

no interfiriera con los resultados de las pruebas confirmatorias. El examen químico comprende la valoración de los siguientes parámetros: urobilinógeno, glucosa, cuerpos cetónicos, bilirrubina, proteínas urinarias, nitritos, leucocitos, sangre/hemoglobina, pH y densidad.

Para la realización de las pruebas confirmatorias se separaron de 10 a 12 mL de orina en un tubo de ensayo el cual luego se selló con papel de “parafilm”. Se centrifugaron los tubos con la orina durante 5 minutos a 400 x g. Se separó el sobrenadante del sedimento y se dejó 1 mL con el sedimento. Las pruebas confirmatorias realizadas correspondieron al método con ácido sulfosalicílico para determinación cualitativa de proteínas y el método de Benedict para confirmar azúcares reductores.

Examen microscópico: Para la realización del análisis microscópico de la muestra de orina se resuspendió el sedimento con el mL de sobrenadante que se dejó en el tubo de ensayo luego de la centrifugación. Se dispuso 30 μ L de sedimento urinario en una lámina portaobjetos y se cubrió con una laminilla cubreobjeto de 22 x 22 mm. Se realizó el correcto enfoque del microscopio y se comprobó la presencia de eritrocitos, leucocitos, células epiteliales, bacterias, levaduras, cristales, cilindros, parásitos y filamentos de mucina cumpliendo con la observación de 10 a 15 campos del sedimento urinario.

Análisis Estadístico: Los datos que se obtuvieron por medio de las fichas de registro se agruparon en tablas de frecuencia absoluta y porcentual. Para la descripción de forma estadística de los resultados del estudio se utilizó el paquete

estadístico SPSS para Windows, Versión 22.0.

Resultados

En la Tabla I se muestra el examen físico de orina en embarazadas atendidas en el Laboratorio Central del Hospital del Tórax "Julio Criollo Rivas" de Ciudad Bolívar, estado Bolívar. Se observó que el color amarillo fue el predominante con un 92,2% (n=118), mientras que el color amarillo intenso le sigue con un 0,8% (n=1), el aspecto ligeramente turbio sobresalió con un 41,2% (n=49), le sigue el aspecto turbio con un 31,1% (n=37), el aspecto claro con un 25,2% (n=30) y el aspecto muy turbio con un 2,5% (n=3), la densidad predominante fue 1.020 con un 33,6% (n=40), le sigue 1.015 con un 26,9% (n=32), 1.025 con un 20,2% (n=24), 1.010 con un 10,9% (n=13), 1.030 con un 3,4% (n=4), 1.005 con un 2,5% (n=3) y 1.000 con un 2,5% (n=3), el pH de todas las muestras fue ácido.

En la Tabla II, se muestran los resultados del examen químico de la orina en gestantes atendidas en el Laboratorio Central del Hospital del Tórax "Julio Criollo Rivas" de Ciudad Bolívar, estado Bolívar, dentro de los cuales el 2,5% (n=3) resultó positivo para el parámetro glucosa, 3,4% (n=4) para el parámetro hemoglobina, 0,8% (n=1) para el parámetro proteínas, 5,9% para el parámetro (n=7) para el parámetro nitritos y 0,8% (n=1) para el parámetro urobilinógeno.

En la Tabla III, entre los elementos organizados del sedimento urinario se encontraron células epiteliales planas escasas con un 48,7% (n=58), células epiteliales planas moderadas con un

Tabla I.

Examen Físico en orina de embarazadas atendidas en el laboratorio Central del Hospital del Tórax "Julio Criollo Rivas" en Ciudad Bolívar - Venezuela

PARÁMETROS FÍSICOS		Nº	%
Color	Amarillo	118	99,2%
	Amarillo Intenso	1	0,8%
Aspecto	Claro	30	25,2%
	Ligeramente Turbio	49	41,2%
	Turbio	37	31,1%
	Muy turbio	3	2,5%
Densidad	1.000	3	2,5%
	1.005	3	2,5%
	1.010	13	10,9%
	1.015	32	26,9%
	1.020	40	33,6%
	1.025	24	20,2%
	1.030	4	3,4%
pH	Ácida	119	100,0%

42,9% (n= 51), células epiteliales renales escasas 83,1% (n= 49), células epiteliales renales moderadas 16,9% (n= 10), células epiteliales de transición escasas con un 83,1% (n= 49), células epiteliales de transición moderadas con un 16,9% (n=10).

En la Tabla IV, al examinar los elementos organizados del sedimento urinario se

Tabla II.

Examen químico en orina de embarazadas atendidas en el laboratorio Central del Hospital del Tórax "Julio Criollo Rivas" en Ciudad Bolívar - Estado Bolívar

PARÁMETROS QUÍMICOS		N	%
Cetonas	Negativo	119	100,0%
	Positivo		
Bilirrubina	Negativo	119	100,0%
	Positivo		
Glucosa	Negativo	116	97,5%
	Positivo	3	2,5%
Hemoglobina	Negativo	115	96,6%
	Positivo	4	3,4%
Proteínas	Negativo	118	99,2%
	Positivo	1	0,8%
Nitritos	Negativo	112	94,1%
	Positivo	7	5,9%
Urobilinógeno	Negativo	119	100,0%
Sales Biliares	Negativo	118	99,2%
	Positivo	1	0,8%
Pigmentos Biliares	Negativo	119	100,0%

encontró que las bacterias moderadas predominaron con un 42,0% (n=50), las bacterias escasas le siguen con un 36,1% (n=43) y por último las bacterias abundantes con un 21,8% (n=26), también se encontraron filamentos de mucina abundantes con un 35,7% (n= 5), filamentos de mucina moderados con un 35,7% (n= 5) y filamentos de mucina escasos con un 28,6% (n=4). Además, se encontraron

levaduras escasas con un 75,0% (n=6), levaduras moderadas con un 12,5% (n= 1) y levaduras abundantes con un 12,5% (n=1). Por otra parte, hubo el hallazgo del parásito *Trichomonas* spp en una muestra.

En la Tabla V, se observaron en el sedimento urinario los leucocitos en su mayoría dentro de 2 - 4 x campo con un 45,4% (n=54), seguidamente leucocitos >8x campo con un 36,1% (n=43) y de 0 - 2 x campo con un 18,5% (n=22). Mientras que los hematíes se observaron en su mayoría dentro del rango de 0 - 2 x campo con un 48,7% (n=58), seguidamente hematíes de 2 - 4 x campo con un 40,3% (n=48) y hematíes >8x campo con un 10,9% (n=13).

Tabla III.

Elementos organizados del sedimento urinario de embarazadas atendidas en el laboratorio Central del Hospital del Tórax "Julio Criollo Rivas" en Ciudad Bolívar - Estado Bolívar

ELEMENTOS	N	%
Células Epiteliales Planas		
Escasas	58	48,7%
Moderadas	51	42,9%
Abundantes	10	8,4%
Células Epiteliales Renales		
Escasas	49	83,1%
Moderadas	10	16,9%
Abundantes	0	0,0%
Células Epiteliales de Transición		
Escasas	49	83,1%
Moderadas	10	16,9%
Abundantes	0	0,0%

Tabla IV.

Elementos organizados del sedimento urinario de embarazadas atendidas en el laboratorio Central del Hospital del Tórax "Julio Criollo Rivas" en Ciudad Bolívar - Estado Bolívar

ELEMENTOS	N	%
Bacterias		
Escasas	43	36,1%
Moderadas	50	42,0%
Abundantes	26	21,8%
Filamentos de Mucina		
Escasas	4	28,6%
Moderadas	5	35,7%
Abundantes	5	35,7%
Levaduras		
Escasas	6	75,0%
Moderadas	1	12,5%
Abundantes	1	12,5%
Formas Parasitarias		
<i>Trichomonas spp.</i>	1	100,0%

Tabla V.

Elementos organizados del sedimento urinario de embarazadas atendidas en el laboratorio Central del Hospital del Tórax "Julio Criollo Rivas" en Ciudad Bolívar - Estado Bolívar

ELEMENTOS	N	%
Leucocitos		
0 - 2 X CAMPO	22	18,5%
2 - 4 X CAMPO	54	45,4%
>8 X CAMPO	43	36,1%
Hematíes		
0 - 2 X CAMPO	58	48,7%
2 - 4 X CAMPO	48	40,3%
>8 X CAMPO	13	10,9%

En la Tabla VI, se muestran los cristales hallados en el sedimento urinario, predominando los cristales de oxalato de calcio moderados con un 80,0% (n=8), seguidamente cristales de oxalato de calcio escasos con un 10,0% (n=1) y cristales de oxalato de calcio abundantes con un 10,0% (n=1), también se encontraron cristales de urato amorfo, predominando los cristales escasos con un 50% (n=2) y moderados con un 50% (n=2).

Tabla VI.

Elementos organizados del sedimento urinario de embarazadas atendidas en el laboratorio Central del Hospital del Tórax "Julio Criollo Rivas" en Ciudad Bolívar - Estado Bolívar

ELEMENTOS	N	%
Oxalato de Calcio		
Escasos	1	10,0%
Moderados	8	80,0%
Abundantes	1	10,0%
Uratos Amorfos		
Escasos	2	50,0%
Moderados	2	50,0%
Abundantes	0	0,0%

En la Tabla VII se muestran los cilindros hallados en el sedimento urinario, que corresponden a los granulosos, predominando los cilindros granulosos con un rango de 0 - 2x campo con un 66,7% (n=2), seguidamente cilindros granulosos con un rango de 2 - 4x campo con un 33,3% (n=1) y los cilindros granulosos con un rango >8 x campo no se observaron.

Discusión

El Examen General de Orina (EGO) en embarazadas es una prueba de rutina

Tabla VII.

Elementos organizados del sedimento urinario de embarazadas atendidas en el laboratorio Central del Hospital del Tórax "Julio Criollo Rivas" en Ciudad Bolívar - Estado Bolívar

ELEMENTOS	N	%
Cilindros Granulosos		
0 - 2 X CAMPO	2	66,7%
2 - 4 X CAMPO	1	33,3%
>8 X CAMPO	0	0,0%

que se realiza para detectar infecciones del tracto urinario (ITU) y otros problemas de salud, como la diabetes gestacional (Vázquez Vázquez y col., 2020). Ayuda a identificar problemas como la presencia de bacterias en la orina (bacteriuria), niveles de glucosa elevados (diabetes) y proteínas en la orina (proteinuria), que pueden indicar problemas renales o preeclampsia.

El análisis físico de la orina, según Boye y col., 2012, se enfoca en la evaluación de las características físicas de la orina, como su color, transparencia, olor y densidad. Estos aspectos pueden revelar información sobre la salud renal y el estado de hidratación de un individuo. En el presente estudio el análisis físico de la orina arrojó que el 99,2% (n=118) de las gestantes presentaron un color amarillo. Esto concuerda con Boye y col. (2012), en su estudio en el cual evaluaron a 200 embarazadas y se determinó que el color amarillo predominó con un total de 66% (n=132), sin embargo, difiere del trabajo realizado en Ghana debido a que además de orinas amarillas se obtuvieron orinas color ámbar en un 18,5% de las embarazadas (n=37), incolora en un 10,5% (n= 21), blanquecina en un 2,5% (n=5) y rojo en un 2% (n=4). Ambos trabajos

concuerdan en que el color amarillo es predominante, siendo el color un indicador poco específico para orientar a sospechar de alguna alteración de la orina relacionada con el embarazo. La orina normal suele ser de color amarillo claro a ámbar. Cambios en el color pueden indicar deshidratación, consumo de ciertos alimentos o bebidas, o enfermedades subyacentes.

En cuanto al aspecto de la orina, se observó que un 31,1% (n=37) presentó un aspecto turbio, y ligeramente turbio en un 41,2% (n=49), siendo que el aspecto turbio y ligeramente turbio los que más se asocian a infecciones urinarias y patologías renales. Boye y col. (2012) en su estudio de 200 embarazada en Ghana reporta que el aspecto estuvo representado por un 66% de color amarillo pálido, ámbar 18,5% y lechoso un 2,5%. Por otro lado, el pH predominante fue ácido con un 100% (n=119). El pH no fue un parámetro específico para determinar desequilibrios en las vías urinarias, puesto que todas las orinas mantuvieron un pH ácido.

La densidad de la orina en mujeres embarazadas o en etapa de pregestación puede proporcionar información sobre la concentración de sustancias disueltas en la orina y el funcionamiento renal. Durante el embarazo, es común que la densidad de la orina varíe debido a cambios hormonales y al aumento de las necesidades del cuerpo. En el presente estudio, la densidad fue en su mayoría de 1.020 con un 33,6%, comparable a los valores promedio de las embarazadas reportados en el estudio observacional retrospectivo de Diorio de Souza y col. (2021), realizado en un hospital terciario de la ciudad de São Paulo con 388 adolescentes embarazadas y 2547 adultas embarazadas de bajo riesgo obstétrico que

iniciaron atención prenatal. Dicho estudio reporta un valor de densidad promedio de 1017. En ambos estudios la densidad se ubicó dentro de los valores de referencia. En el embarazo, una densidad de orina alta podría estar asociada con mayor riesgo de infecciones urinarias, mientras que una densidad baja podría reflejar una hidratación adecuada. Sin embargo, la densidad de la orina no es un indicador aislado de problemas de salud y siempre debe interpretarse en conjunto con otro análisis médico. El examen químico, 2,5% (n=3) de las muestras resultaron positivas a glucosa. Aunque la glucosuria (presencia de glucosa en la orina) puede ser un indicador de hiperglucemia y, por lo tanto, de diabetes gestacional, el diagnóstico se realiza principalmente a través de pruebas de tolerancia a la glucosa. El porcentaje de mujeres embarazadas que desarrollan diabetes gestacional varía, pero se estima que afecta al 5% al 15% de las embarazadas, en el caso del presente trabajo se determinó un bajo porcentaje de embarazadas las cuales pudiesen llegar a presentar esta patología.

Con respecto a las proteínas solo una, con un 0,8% (n=1), se le determinó la presencia de proteínas, indicando prevalencia de proteinuria casi nula en la población evaluada. Estos resultados difieren de Hui y col. (2016), quienes en su trabajo "Impacto de la proteinuria aleatoria en orina sobre los resultados maternos y fetales del embarazo: un estudio retrospectivo de casos y controles", en el cual se estudiaron a 2.822 embarazadas, reportan la presencia de proteínas urinarias en 536 gestantes con un 19,0%. La proteinuria en gestantes es un indicador de alerta que puede indicar una enfermedad renal o, en algunos casos, preeclampsia. Se define como la presencia

de más de 300 mg de proteínas en la orina de 24 horas. Aunque la proteinuria puede ser normal en ciertos niveles durante el embarazo debido a cambios fisiológicos, niveles significativos requieren evaluación médica.

Se determinó la presencia de nitritos positivos en un 5,9% de las muestras (n=7), lo que concuerda con Mwikali (2018), pues en su investigación en el Hospital Nacional De Kenyatta, Nairobi, Kenia", en donde se trabajó con 132 embarazadas, la presencia de nitritos se pudo evidenciar en 7 con un 5,4%. Sin embargo, en ambas investigaciones se observa un número importante de candidatas a padecer una infección urinaria.

Con respecto a los elementos organizados del sedimento urinario, se pudo determinar que las células epiteliales planas se encontraron de manera predominante con un 48,7% (n=58), lo que concuerda con Kwabena, Quansah y Dadzie (2019), en su estudio en 200 embarazadas que asisten a la clínica prenatal en el Hospital Regional de Bolgatanga, Ghana, donde se determinó la presencia de células epiteliales planas escasas con un 75% (n=150).

En el presente estudio, en cuanto a las bacterias, se determinó bacterias escasas en 43 embarazadas, un 36,2%, bacterias moderadas con un 42% (n=50) y abundantes con un 21,8% (n=26). Esto difiere de Zúñiga Martínez y col. (2019), en una muestra de 134 embarazadas en la que reporta bacterias escasas con un 32% (n=43), bacterias moderadas en 26% de las muestras (n=35) y abundantes en el 15% (n=20) y bacterias ausentes con un 27% (n=36). La presencia de bacterias en la orina de mujeres embarazadas puede indicar una infección del tracto urinario (ITU), que es

común durante el embarazo debido a los cambios hormonales y fisiológicos que afectan el sistema urinario (Autún Rosado y col., 2015). Al respecto, se pudo observar la presencia de formas parasitarias de *Trichomonas* sp. en una de las muestras de orina. La presencia de *Trichomonas* spp en la orina generalmente indica una infección por *Trichomonas vaginalis*, un parásito de transmisión sexual que causa tricomoniasis. La tricomoniasis puede aumentar el riesgo de otras infecciones de transmisión sexual y, en mujeres embarazadas, se ha asociado con complicaciones como parto prematuro y bajo peso al nacer. En contraste, Boye y col., (2012) en un estudio en 200 embarazadas reportó la presencia de formas parasitarias de *Schistosoma haematobium* ova en apenas una muestra. Este mismo autor determinó la prevalencia de infecciones del tracto urinario en los tres trimestres, que se situó en el 56,5 %. La *Escherichia coli* fue el microorganismo más implicado (48,7 %), indicando que la incidencia de infecciones del tracto urinario fue alta entre las embarazadas, por lo tanto, el cribado microbiológico de orina debería incluirse en los controles prenatales de rutina de las mujeres embarazadas para detectar infecciones asintomáticas y reducir su riesgo para los embarazos. Por su parte, Fretes y col. (2020) reportaron que en 202 pacientes de 24 ± 6 años, el 83% presentó síntomas sugerentes de infección de las vías urinarias, pero la prevalencia de dicha patología fue del 2%. Los agentes etiológicos aislados más comunes fueron *Escherichia coli* y *Staphylococcus saprophyticus*.

En relación a la presencia de levaduras en el presente estudio se reportó en 8 muestras, lo que concuerda con Diorio de Souza y col. (2021) en su estudio en el cual

se incluyeron 458 muestras, en las cuales encontraron levaduras en 3 gestantes adolescentes y en 10 adultas.

Con respecto a los elementos sanguíneos organizados del sedimento urinario, los leucocitos dentro del rango >8 x campo fue de un 36,1% ($n=43$) y los hematíes >8 x campo se presentaron con un 10,9% ($n=13$). Esto no tiene concordancia con lo reportado por Fretes y col. (2020) quien analizó la orina de 202 gestantes, y en 49 (24%), se obtuvo leucocituria (glóbulos blancos en el sedimento urinario en proporción mayor a 5 por campo) y en 27 (13%) se halló hematuria microscópica.

Se encontraron en su mayoría cristales de oxalato de calcio en 10 muestras, además de cristales de uratos amorfos en 4, lo que difiere con Diorio de Souza y col. (2021) quienes reportan la presencia de cristales de fosfato triple en 10 adolescentes y 18 adultas. Concuerda en la presencia de cristales de oxalato de calcio en 3 muestras de adolescentes y 32 adultas y uratos amorfos en 1 adolescente y 7 adultas. La presencia de cristales en la orina, por sí sola, no indica una infección. Más bien, sugiere la posibilidad de trastornos renales o metabólicos, como la formación de cálculos.

Respecto a los cilindros solo se determinaron cilindros granulados en 3 muestras, lo que difiere de Kwabena, Quansah y Dadzie (2019), quienes reportaron cilindros hialinos en solo una muestra, ambos reportes indican baja presencia de cilindros en las muestras de orina. Este parámetro tiene importancia debido a que cilindros hemáticos y leucocitarios pueden evidenciarse asociados a patologías como infecciones, sin embargo, en ninguna de las investigaciones se observó su presencia.

Conclusiones

En el examen macroscópico de la muestra de orina el color amarillo fue predominante, no observándose otras tonalidades, mientras que el aspecto que más predominó fue el ligeramente turbio, las densidades urinarias se ubicaron dentro del valor de referencia y el pH fue ácido en todas las muestras, lo que demuestra que dentro de la población de embarazadas evaluadas, el aspecto fue el parámetro más alterado.

En cuanto al examen químico, pocas muestras fueron positivas, siendo los nitritos el parámetro que tuvo mayor porcentaje de positividad, seguido de la glucosa y las proteínas; aspecto importante debido a la asociación de los nitritos positivos a bacterias presentes en la orina, la glucosa a diabetes gestacional y las proteínas a preeclampsia.

Por otro lado, el análisis microscópico de la muestra demostró que las células epiteliales escasas, bacterias moderadas y levaduras escasas fueron predominantes, siendo importantes a la hora de determinar una infección y las células epiteliales planas alguna patología renal o fisiológica. Además, se reportó la presencia de *Trichomonas* spp en una de las muestras.

Los leucocitos se manifestaron en su mayoría de 2 - 4 x campo seguido de >8, lo que orienta a posibles infecciones en un número importante de embarazadas, aunado a esto los hematíes se presentaron en su mayoría dentro del rango normal.

Los únicos cristales observados fueron oxalato de calcio y uratos amorfos, mientras que los cilindros fueron granulosos. Estos parámetros se presentaron de forma escasa en comparación con la muestra de estudio.

Recomendaciones

- ▶ Realizar más investigaciones en Venezuela acerca del análisis general de orina (EGO) en embarazadas en otros grupos de población, con muestreos más amplios.
- ▶ Desarrollar investigaciones tomando en cuenta parámetros como la edad, el tiempo de gestación y datos socioeconómicos de las embarazadas en Venezuela.
- ▶ Educación en cuanto a la importancia del examen general de orina como control prenatal.
- ▶ Instruir a las gestantes acerca de cómo deben obtener la muestra de orina de manera correcta y explicar la importancia de hacer esto para obtener resultados confiables.
- ▶ Campañas por parte del personal de salud acerca del EGO y su importancia en el embarazo.

Agradecimientos

Al Laboratorio Central del Hospital del Tórax Julio Criollo Rivas de Ciudad Bolívar, estado Bolívar, por el apoyo en el análisis y recolección de los datos. A la profesora Marisol Mejías, quien fuera jefa del laboratorio Hospital del Tórax Julio Criollo Rivas de Ciudad Bolívar, estado Bolívar, por permitirnos trabajar en las instalaciones durante la investigación.

Conflicto de interés

Los autores declaran que no existe conflicto de interés.

Referencias Bibliográficas

- Autún Rosado DP, Sanabria Padrón VH, Cortés Figueroa EH, Rangel Villaseñor O, Hernández Valencia M. 2015. Etiología y frecuencia de bacteriuria asintomática en mujeres embarazadas. *Perinatol Reprod Hum* 29 (4): 148-151.
- Boye A, Mate Siakwa P, Nyarko Boampong J, Asumeng Koffuor G, Dadzie Ephraim RK, Amoateng P, Obodai G, Penu G. 2012. Asymptomatic urinary tract infections in pregnant women attending antenatal clinic in Cape Coast, Ghana. *Journal of Medical Research* 1(6):074-083.
- Diorio de Souza H, Hase EA, Knippel Galletta MA, Rodrigues Mota Diorio G, Lippi Waissman A, Pulcineli Vieira Francisco R, Zugaib M. 2021. Perfil bacteriano urinario y susceptibilidad a antibióticos en adolescentes embarazadas y mujeres adultas embarazadas de bajo riesgo obstétrico. *Infect Drug Resist* 14:2829-2841.
- Fretes MS, Fretes NE, Villagra AR, Galeano A, Oviedo RV, Santa Cruz FV. 2020. Infección Urinaria en Embarazadas que asisten al Consultorio Externo del Hospital Materno Infantil Santísima Trinidad. Asunción, Paraguay. *Anales de la Facultad de Ciencias Médicas (Asunción)* 53(1): 31-40, 20200401.
- Hui B, Woon Kim J, Sang Choi H, Kwon Ma S, Wan Kim S. 2016. Impacto de la proteinuria aleatoria en la orina en los resultados maternos y fetales del embarazo: un estudio retrospectivo de casos y controles. *Médico Interno Coreano* (6): 1062-1068.
- King Strasinger S, Schaub Di Lorenzo. 2016. Análisis de orina y de los líquidos corporales. Editorial Panamericana. España. 6a ed. 336 pp. Disponible: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S03259572014000200006&script=sci_artt_ext
- Kouri T, Gant V, Hallander H, Georg W. 2017. Guía Europea de Uroanálisis. Confederación Europea de Medicina de Laboratorio. Disponible: <https://www.studocu.com/ec/document/escuela-politecnica-nacional/sedimentologia-y-estratigrafia/001-guia-europea-de-uroanalisispdf-version-1-parte-1/78401936>.
- Kwabena F, Quansah E, Dadzie I. 2019. Antimicrobial Profile and Asymptomatic Urinary Tract Infections among Pregnant Women Attending Antenatal Clinic in Bolgatanga Regional Hospital, Ghana. *Microbiology Research Journal International* 28(3): 1-8.
- Mwikal MA. 2018. Asymptomatic Bacteriuria Among Pregnant Women Receiving Antenatal Care at Kenyatta National Hospital, Nairobi, Kenya. (Thesis). Disponible: <https://erepository.uonbi.ac.ke/handle/11295/106149>.
- Prieto Valtueña JM, Yuste Ara JR. 2019. *Balcells La Clínica y el Laboratorio*. Editorial Elsevier. España. 23a ed. 1189 pp.
- Vázquez Vázquez M, Chacón Gonzáles C, Rivera Fumero F. 2020. Infecciones del tracto urinario en mujeres embarazadas. *Revista Médica Sinergia* 5 (5): e482-e4.
- Zúñiga Martínez M, López Herrera K, Vértiz Hernández AA, Loyola Leyva A, Terán Figueroa Y. 2019. Prevalencia de infecciones de vías urinarias en el embarazo y factores asociados en mujeres atendidas en un centro de salud de San Luis Potosí, México. *Investigación y Ciencia* 27 (77): 47-55.



Discinesia tardía, aspectos fisiopatológicos y tratamiento

Tardive dyskinesia, pathophysiological aspects and treatment

REYES A ZERPA URDANETA^{1*}, MARGARITA SALAZAR-BOOKAMAN^{2**}

Resumen

La discinesia tardía es un efecto adverso relativamente frecuente, ocasionado por el uso de fármacos antipsicóticos, aunque otros medicamentos que tienen como mecanismo de acción el bloqueo dopaminérgico, también son capaces de producir esta grave complicación. Se caracteriza por movimientos estereotipados de la boca, la lengua, que pueden estar asociados a distonias, temblor, acatisia, movimientos coreicos y alteraciones sensitivas como dolor y parestesias. Esto genera en el paciente incapacidad y alejamiento social. Se presenta una revisión de la literatura con la finalidad de actualizar los conocimientos con relación a esta patología, en especial los relacionados a la epidemiología, fisiopatología y algunos aspectos del tratamiento.

Palabras clave: Discinesia tardía, fármacos antipsicóticos, neurolépticos. Antipsicótico atípicos, Valbenazina, Tetrabenazina

Abstract

Tardive dyskinesia is a relatively common adverse effect caused by antipsychotic drugs. However, other medications that act through dopaminergic blockades are also capable of producing this serious complication. It is characterized by stereotyped movements of the mouth and tongue, which may be associated with dystonia, tremor, akathisia, choreic movements, and sensory disturbances such as pain and paresthesia. This causes disability and social withdrawal in the patient. The literature is reviewed, especially its epidemiology, pathophysiology, and some aspects of treatment.

Keywords: Tardive dyskinesia, antipsychotic drugs, neuroleptics. Atypical antipsychotics, Valbenazine, Tetrabenazine

*Especialista en Medicina Interna, Medicina Crítica. MSc Farmacología UCV, Docente del Instituto de Ciencias de la Salud. UMBV. Venezuela. Correspondencia: zerpara19@gmail.com. **Catedra de Farmacología, Facultad de Farmacia, UCV

Orcid: [0009-0001-0653-376X](https://orcid.org/0009-0001-0653-376X)
[0000-0002-4439-9856](https://orcid.org/0000-0002-4439-9856)

DOI: [10.54305/RFFUCV.2025.88.1-2.4](https://doi.org/10.54305/RFFUCV.2025.88.1-2.4)
Disponible: http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_ff

Recepción: 19/04/2025

Aprobación: 22/04/2025

Rev. Fac. Farmacia 88(1): 26-41. 2025

Introducción

La discinesia es un trastorno incapacitante del movimiento asociado al uso de fármacos antipsicóticos, neurolépticos atípicos y aquellos usados en el tratamiento de los trastornos gastrointestinales que tengan la capacidad de bloquear los receptores dopaminérgicos D2. Se presenta por el uso prolongado de este tipo de medicamentos y el riesgo comienza a partir de los 3 a 4 meses de uso continuo de la medicación antipsicótica (Barberán y col., 2014). No todos los pacientes que toman estos medicamentos desarrollan el cuadro de discinesia y no se conoce la razón de este hecho. Las alteraciones motoras extrapiramidales se pueden producir al inicio del tratamiento con fármacos antipsicóticos, tal es el caso, de las discinesias agudas, como son, los parkinsonismos y la acatisia. La discinesia tardía se puede presentar clínicamente de diversas maneras y se convierte en un cuadro clínico grave de muy difícil tratamiento y con una afectación importante de la calidad de vida del paciente y un pronóstico muy ominoso.

La discinesia tardía se refiere a movimientos involuntarios repetitivos de la mandíbula, los labios y la lengua, tales como sacar la lengua y chasquear, fruncir los labios y chasquear, realizar movimientos masticatorios. También se describen movimientos involuntarios rápidos y espasmódicos (Corea) o lentos y retorcidos de los brazos y las piernas (atetosis) (NINDS, 2012; NORD, 2014). El diagnóstico de la enfermedad se realiza de modo clínico y se fundamenta en el hecho del consumo del medicamento antipsicótico por más de tres meses y la aparición de los síntomas ya descritos, además de la realización de exámenes de laboratorio e imágenes que permitan descartar otras patologías.

La segunda generación de fármacos antipsicóticos como el aripiprazol, quetiapina, risperidona, clozapina, olanzapina y ziprasidona, han desplazado a los viejos antipsicóticos en el tratamiento de los pacientes hospitalizados y ambulatorios. Se ha planteado que estos nuevos fármacos deberían mejorar los trastornos extrapiramidales que habitualmente aparecen en los pacientes tratados con neurolépticos, ya que los antipsicóticos atípicos tienen menor riesgo de producir estos efectos adversos. En un estudio de la epidemiología de la discinesia tardía Tarsy y Baldesarii (2006), para aquel momento reportaron una disminución del riesgo para las distonías agudas y el parkinsonismo, mientras que para la acatisia y el síndrome neuroléptico maligno el riesgo era variable y para el momento del estudio, el riesgo de desarrollar discinesia tardía estaba declinando, aunque los autores consideraron muy temprano para llegar a una conclusión definitiva. Otro estudio analizó la frecuencia con que se presenta la discinesia tardía en los pacientes tratados con medicamentos antipsicóticos y es variable. Analizando el tratamiento con cualquier tipo de antipsicóticos, la frecuencia es de 25,3%, mientras que la incidencia para los antipsicóticos de primera generación fue de 30% y en los pacientes tratados con antipsicóticos de segunda generación, o atípicos, es de 20% (Carbon y col., 2017).

El riesgo de discinesia tardía usando los fármacos que combinan efectos antagonistas del receptor D2/antagonista de los receptores de serotonina o agonistas parciales del receptor D2 es menor, en comparación con el riesgo que tiene el paciente que usa los antagonistas de los receptores D2 o antipsicóticos típicos o de primera generación. Esta afirmación

continuó siendo objeto de controversia, por lo que se realizó un nuevo metaanálisis de estudios aleatorios controlados. La finalidad del estudio fue estimar el riesgo relativo de discinesia tardía y comparar los antipsicóticos de primera generación o típicos con los de segunda generación o atípicos (Carbon y col., 2018), también, se compararon entre sí los antipsicóticos de segunda generación o atípicos. La incidencia anualizada de discinesia tardía fue de 6,5 % en los pacientes que recibieron los antipsicóticos de primera generación o típicos contra 2,6 % en los pacientes tratados con antipsicóticos de segunda generación o atípicos; el resultado es independiente de la dosis de antipsicótico de primera generación usada. Este estudio sugiere que entre los antipsicóticos de segunda generación o atípicos la olanzapina y el aripiprazol poseen un menor riesgo de producir discinesia tardía cuando se comparan los antipsicóticos de segunda generación entre sí.

Existe una serie de factores de riesgos de sufrir la discinesia tardía, la edad es uno de los más importantes. A medida que se avanza en edad el riesgo de sufrir discinesia se incrementa, pero también es importante que en cuanto a la forma de presentación clínica hay un predominio de las formas coreicas sobre las distónicas. Por esta razón la forma más común en ancianos es la discinesia bucolingual mientras que en las personas jóvenes predominan las distonías, siendo más generalizada mientras más joven es el paciente (Venegas y col., 2003; Micó Segura y col., 2017).

Las discinesias se presentan con más frecuencia en los pacientes del sexo femenino, y esto es más cierto cuando se habla de la discinesia bucolingual. La patología es más común en pacientes

que tengan familiares que padezcan de discinesia (Yassa y Ananth,1981). Es controversial el planteamiento de algunos investigadores que la discinesia tardía se presenta con más frecuencia en pacientes con patología neurológica y requieren, por alguna razón, el uso de antipsicóticos. Está claramente demostrado que la frecuencia de discinesia en pacientes VIH positivos con SIDA que requieren el uso de fármacos antipsicóticos es mayor (Barnes,1987). En los pacientes con patología psiquiátrica la discinesia tardía se presenta con más frecuencia en aquellos que sufren de alteraciones del estado del ánimo como la depresión psicótica y el trastorno bipolar. En el caso de la esquizofrenia, su incidencia es intermedia en relación a otras patologías psiquiátricas (Barnes,1987).

La diabetes mellitus es un factor de riesgo muy elevado para la aparición de discinesia tardía, de hecho, la diabetes por sí sola es capaz de producir discinesia, especialmente la bucolingual (Ganzini y col.,1991). La aparición de la discinesia aguda al inicio del tratamiento es un factor de riesgo que anuncia la aparición de discinesia tardía (Kane y col., 1988). El tabaquismo, en especial el consumo de más de 20 cigarrillos al día es un factor de riesgo para el desarrollo de discinesia tardía. Se sabe que la nicotina inhibe la recaptación de dopamina y agota las vesículas que la almacenan disminuyendo su liberación y potenciando el efecto neuroléptico; además, incrementan la concentración local de radicales libres de oxígeno produciendo lesión neuronal local (Nilsson y col.,1997).

La terapia electroconvulsiva puede ser causa de discinesia (Kane y col., 1988). En algunos pacientes no es posible establecer una relación entre la discinesia y el uso de fármacos antipsicóticos, en estos casos

se considera a la discinesia tardía como idiopática y representan del 1 al 5% de las discinesias (López Gómez, 2020; Kane y Smith, 1982). Se ha observado una mayor frecuencia de discinesia tardía en pacientes afroamericanos (Awartz y col., 1998), reportándose incidencias tan altas como 47% en pacientes afroamericanos contra 26% en pacientes Caucásicos (Lindamer y col., 1999). No existe una razón clara que explique estas diferencias. No está claro si los pacientes de raza negra sufren de algún defecto congénito o enzimático, lo que parece estar claro, es que en este grupo de pacientes se administran mayores dosis de antipsicóticos con relación a los pacientes Caucásicos. De este planteamiento se concluye que los pacientes afroamericanos que requieran antipsicóticos deben ser, en lo posible, tratados con fármacos atípicos o de segunda generación tales como la olanzapina y la risperidona (García Campayo y Alda, 2003).

Los fármacos que se han asociado a la aparición de discinesia tardía son fundamentalmente los que afectan la transmisión dopaminérgica. En este grupo tenemos los antipsicóticos (neurolépticos y atípicos), los inhibidores de la recaptación de serotonina, los bloqueantes de los canales de calcio, los agentes procinéticos que modifican la motilidad gastrointestinal, los antidepresivos tricíclicos, los anticonvulsivantes y los antiarrítmicos (Tabla I).

ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS

La fisiopatología de la discinesia no se conoce exactamente, por lo que existen varias teorías para explicar su aparición. La primera es la denominada **Teoría de la hipersensibilidad y la**

Tabla I.
Fármacos relacionados con la aparición de discinesia tardía

FLUFENAZINA	TIORIDAZINA
CLOPRIMAZINA	HALOPERIDOL
ZUCLOPENTIXOL	OLANZAPINA
QUETIAPINA	SULPIRIDE
CLOZAPINA	CLOMIPRAMINA
AMITRIPTILINA	IMIPRAMINA
DESIPRAMINA	VENLAFAXINA
NIMODIPINA	NITRENDIPINA
NIFEDIPINA	DILTIAZEM
VERAPAMILO	FLUNARIZINA
CINARIZINA	METOCLOPRAMIDA
TIETILPIPERAZINA	SERTRALINA
PAROXETINA	VENLAFAXINA
RESERPINA	ALFAMETILDOPA
CARBAMAZEPINA	FENITOÍNA
LAMOTRIGINA	ÁCIDO VALPROICO

disponibilidad de la dopamina. La teoría de la hipersensibilidad dopaminérgica postula que la exposición prolongada a antipsicóticos, que bloquean los receptores de dopamina, puede provocar que el cerebro se vuelva más sensible a la dopamina. Este fenómeno, conocido como hipersensibilidad, puede manifestarse como psicosis de rebote o síntomas motores anormales. Esta teoría plantea que la hipersensibilidad del receptor D2 de dopamina está relacionada con la aparición de la discinesia tardía y actualmente es la hipótesis con más amplia aceptación (Takeuchi y col., 2022). Se involucra a la vía nigroestriatal, que es una vía nerviosa dopaminérgica que conecta la sustancia negra (específicamente la pars compacta) con el estriado dorsal (que incluye el núcleo caudado y el putamen) en el cerebro, donde la dopamina modula la actividad neuronal y contribuye al control del movimiento. Es importante recordar, que para el efecto de

activación de la corteza motora cerebral existen dos vías: la vía directa que es estimuladora de la actividad motora cortical y que funciona por la estimulación de un receptor de dopamina tipo D1 y una indirecta, que tiene un efecto inhibitor sobre la actividad motora cortical y que, a su vez, es inhibida por la acción de la dopamina a través de la estimulación de un receptor dopaminérgico D2. En consecuencia, la dopamina tiene un efecto neto que es estimulador de la actividad motora de la corteza cerebral, su disminución a nivel de los núcleos de la base del cerebro se traduce en una menor actividad motora cortical que clínicamente se traduce en la bradicinesia, propia de la enfermedad de Parkinson o del uso de los fármacos con efecto bloqueante de los receptores de dopamina tipo D2. El bloqueo de los receptores D2 genera supersensibilidad de los receptores D2, en especial los presinápticos. Esto genera el incremento de la síntesis y liberación de dopamina (recambio de la dopamina), lo cual estimula a los receptores D1 de dopamina que se encuentran libres debido a la poca afinidad de los fármacos bloqueantes dopaminérgicos por estos receptores. La estimulación de la vía directa produce una activación intensa de la corteza motora generando hipercinesia, la cual se expresa clínicamente en las diversas formas de discinesia.

Varios argumentos apoyan esta hipótesis, el primero es que la discinesia tardía puede mejorar con el incremento de la dosis del antipsicótico, pero solo de manera temporal. Segundo los antipsicóticos de primera generación que bloquean con mayor afinidad los receptores D2 producen la discinesia tardía con más frecuencia que los antipsicóticos de segunda generación que tienen menos afinidad por y ocupan

menos receptores D2. En tercer lugar, en algunos estudios se ha demostrado que existe polimorfismo genético en los genes D2 y D3 del receptor de dopamina que predisponen a la aparición de discinesia tardía. Del mismo modo, se ha demostrado polimorfismo del gen del VMAT-2 (transportador vesicular-2 de monoaminas), que regula la movilización del neurotransmisor dopamina asociado a la aparición de discinesia tardía. Otro argumento es que el único tratamiento que ha mejorado la discinesia tardía justamente es el de los inhibidores de la VMAT-2 (Zai y col., 2018). Efectivamente, los inhibidores de VMAT-2, como la tetrabenazina y la valbenazina, han demostrado ser efectivos en la reducción de los síntomas de la discinesia tardía. Estos medicamentos funcionan al disminuir la cantidad de dopamina disponible en el cerebro, lo que ayuda a reducir los movimientos involuntarios que caracterizan la discinesia tardía.

TEORÍA DEL ANTAGONISMO DOPAMINA-SEROTONINA

Esta teoría está soportada por el efecto de los antipsicóticos atípicos como la clozapina que producen una menor incidencia de trastornos del movimiento. Los antipsicóticos atípicos más recientes, como risperidona, olanzapina, quetiapina, ziprasidona y aripiprazol, son conocidos como antipsicóticos de segunda generación o atípicos. Estos medicamentos fueron desarrollados a partir de la década de 1990, con la clozapina como fármaco prototipo. Se caracterizan por su menor riesgo de efectos secundarios extrapiramidales y su mayor eficacia para tratar tanto los síntomas positivos como negativos de la psicosis. Se ha propuesto que la interacción

entre los sistemas serotoninérgicos (5-HT) y dopaminérgicos podría desempeñar un papel crucial en el mecanismo de acción de los fármacos antipsicóticos atípicos, ya que un bloqueo relativamente potente de los receptores 5-HT_{2A}, junto con un antagonismo más débil de los receptores dopaminérgicos D₂, es la única característica farmacológica común a la mayoría de los fármacos antipsicóticos atípicos. Esta denominada «hipótesis serotonina-dopamina» se ha convertido en un modelo útil para desarrollar nuevos fármacos antipsicóticos atípicos para lograr una eficacia antipsicótica superior con una menor incidencia de efectos secundarios extrapiramidales en comparación con los fármacos antipsicóticos de primera generación (AFG), como el haloperidol y la clorpromazina.

TEORÍA DE LAS ESPECIES REACTIVAS

Esta teoría propone que el uso prolongado de los antipsicóticos incrementa la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) que actúan como neurotoxinas. El recambio de la dopamina causado por el bloqueo dopaminérgico genera una serie de productos intermedios como el peróxido de hidrógeno y radicales libres de oxígeno, que producen la peroxidación de los ácidos grasos insaturados y daño de las membranas lipídicas y daño neuronal. Estudios genéticos sugieren una relación entre el polimorfismo Ala9/Val del gen de la superóxido dismutasa del manganeso (Mn-SOD) y la discinesia tardía. El polimorfismo Ala9/Val implica una sustitución de un aminoácido (alanina o valina) en la posición 9 de la proteína Mn-SOD. Los portadores de la variante Val9 se han asociado con una mayor susceptibilidad a desarrollar discinesia tardía (Cho y Lee, 2013).

TEORÍA DE LA INTERACCIÓN DOPAMINA-GABA

Los heterorreceptores de dopamina de las neuronas gabaérgicas ubicadas en el estriado anterior y el globo pálido externo al ser estimulados producen una acción inhibitoria gabaérgica, mientras que la estimulación de los receptores dopaminérgicos ubicados en la neurona gabaérgica del globo pálido interno y el estriado posterior genera una acción excitatoria gabaérgica. Los antipsicóticos bloquean ambos receptores dopaminérgicos, por lo tanto, las neuronas gabaérgicas del estriado anterior y del globo pálido externo son facilitadas, mientras que las neuronas del estriado posterior y del globo pálido interno son inhibidas. En un estudio de primates no humanos se ha demostrado que la facilitación de las neuronas gabaérgicas del estriado anterior y el globo pálido externo se asocia al parkinsonismo, mientras que la inhibición de la actividad gabaérgica en el estriado posterior y el globo pálido interno se asocia a hipercinesia. Por otro lado, el uso prolongado de la medicación antipsicótica puede causar daño a las neuronas gabaérgicas del estriado. Este daño hace que estas neuronas se hagan hipofuncionantes y desregulen el balance entre la vía indirecta y la directa (Waln y Jankovic, 2013). En contra de esta teoría está el hecho que el uso de agonistas del GABA no han mostrado ser un tratamiento muy efectivo en el tratamiento de la discinesia tardía.

TEORÍA DE LA DISOCIACIÓN RÁPIDA DEL COMPLEJO MEDICAMENTO ANTIPSICÓTICO/ RECEPTOR

La teoría de la disociación rápida del complejo medicamento antipsicótico/receptor propone que los antipsicóticos

atípicos se unen a los receptores D2 de dopamina con una menor afinidad y se disocian más rápidamente que los antipsicóticos típicos. El fármaco, por lo general un antipsicótico atípico, se une sólo brevemente al receptor dopaminérgico ejerciendo su efecto antidopaminérgico y se disocia rápidamente evitando los efectos adversos (K-off). Esta rápida disociación permite que la dopamina fisiológica se una y salga del receptor, lo que se cree que reduce la probabilidad de efectos secundarios extrapiramidales y la elevación de prolactina, que son más comunes con los antipsicóticos típicos. Esta propiedad se observa en los antipsicóticos atípicos y es una de las razones para apreciar menos efectos adversos extrapiramidales como rigidez, movimientos incontrolados y temblores (Vanegas y col., 2003; Micó Segura y col., 2017). Estos efectos secundarios son una consecuencia de la prolongada ocupación de los receptores D2 por parte de los antipsicóticos típicos. La velocidad de disociación de la quetiapina del complejo fármaco/receptor es 100 veces más rápida que la del haloperidol (Qayyum Rana y col., 2013).

TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO

El tratamiento de la discinesia tardía se enfoca en reducir la dosis o el uso de los antipsicóticos que la causan, y en tratar los síntomas con medicamentos como la tetrabenazina y la valbenazina, o en algunos casos con estimulación cerebral profunda. No se recomienda la suspensión total del antipsicótico porque esta acción puede agravar la discinesia, debido al incremento de la dopamina y de los receptores dopaminérgicos que, asociado a una disminución del bloqueo

dopaminérgico, exacerbaban los síntomas de la discinesia (Bergman y col., 2018). Se ha observado que los pacientes que por mejoría de su trastorno psiquiátrico han dejado el tratamiento antipsicótico, la discinesia no mejoró dos años después de retirar el tratamiento. Algunos pacientes pueden mejorar si el antipsicótico se suspende en las fases tempranas de la discinesia.

Al desarrollarse la discinesia es necesario cambiar el fármaco antipsicótico, en especial si se trata de uno típico (neuroléptico) se deberá utilizar uno atípico o de segunda generación. La clozapina se considera el fármaco de elección para el tratamiento de esta patología. La clozapina tiene muy poco o ningún efecto extrapiramidal debido a su perfil farmacológico. Es el antipsicótico más potente, que ejerce su efecto con poca ocupación de los receptores D2, actúa también sobre los receptores D4, tiene una gran selectividad por la vía mesolímbica y poca afinidad por las neuronas nigroestriatales y una acción antagonista sobre los receptores de serotonina 5-HT_{2A} y agonista parcial de los receptores 5-HT_{1A} mejorando la liberación de dopamina en zonas como el estriado.

La clozapina ha sido usada en el tratamiento de los trastornos del movimiento, tipo discinesia tardía, parkinsonismo, acatisia y los resultados muestran una mejoría de los cuadros clínicos mencionados, siendo la mejoría de la discinesia tardía y de la acatisia superior a la mejoría que se obtuvo del parkinsonismo en 18 semanas de tratamiento. La mejoría de las manifestaciones extrapiramidales sucedió antes de la mejoría de los síntomas psicóticos (Spivak y col., 1997; Small y col., 1987). El riesgo de usar la clozapina es la agranulocitosis. La clozapina debe

ser utilizada de forma continua, su retirada o suspensión se asocia a la reaparición de los síntomas de la discinesia tardía, fenómeno de rebote (Wittenberg y col., 1996; Shrivastava y col., 2009). En caso de no lograr mejoría se plantea el uso de los fármacos que depletan la dopamina, tales como tetrabenazina, deutetrabenazina y valbenazina. Estos compuestos son análogos sintéticos de la reserpina, sin los efectos cardiovasculares de este fármaco (bradicardia e hipotensión). Esto es debido a la incapacidad de la tetrabenazina y sus análogos de afectar los sistemas monoaminérgicos periféricos. Además, a diferencia de la reserpina, producen una acción más rápida, breve y menos intensa, lo que permite ajustar la dosis de modo más rápido y con menos riesgo (Pazos y Pascual, 2013).

Partiendo del concepto de que la discinesia tardía es causada por un estado de hiperactividad dopaminérgica, el mecanismo de acción de la **tetrabenazina** y sus análogos es disminuir la liberación de dopamina por parte del terminal nervioso, mediante la depleción de las vesículas que contienen el neurotransmisor monoaminérgico. Las vesículas vacías no liberan el neurotransmisor a la llegada del impulso nervioso. El vaciado de las vesículas se logra a través de la inhibición del transportador de monoaminas vesicular 2 (VMAT2) que es el encargado de introducir el neurotransmisor monoaminérgico al interior de la vesícula.

La tetrabenazina es un fármaco que se utiliza en el tratamiento de la enfermedad de Huntington y es el más efectivo en el tratamiento de la discinesia tardía. La deutetrabenazina y la valbenazina también están indicadas por ficha técnica en el tratamiento de la discinesia tardía. Existen

reportes importantes en la literatura sobre el uso de la tetrabenazina en el tratamiento de la discinesia tardía. Jankovic y Beach (1997) reportaron el uso de la tetrabenazina en 526 pacientes con trastornos hiperquinéticos del movimiento, de los cuales solo 400 pacientes fueron incluidos en el estudio, con un período de observación promedio de 29 meses, observándose una mejoría del 89,2% de 93 pacientes con estereotipia tardía y 80,5% de 82 pacientes con distonía tardía; en este estudio los efectos adversos más frecuentes fueron somnolencia (36,5%), parkinsonismo (28,5%), depresión (15%), insomnio (11%), nerviosismo, ansiedad (19,3%) y acatisia (9,5%). Los efectos adversos fueron controlados con la disminución de la dosis. Otro estudio interesante es el de Ondo y col. (1999) quienes grabaron en vídeo veinte pacientes con discinesia tardía (duración media = 43,7 meses) antes y después del tratamiento con tetrabenazina. Las cintas de vídeo aleatorias fueron calificadas con el subconjunto motor de la Escala de Movimiento Involuntario Anormal (AIMS) aplicada por evaluadores ciegos al estado previo o posterior al tratamiento. Los hallazgos mostraron que un paciente no toleró la tetrabenazina debido a la sedación. Los 19 restantes fueron evaluados después de una media de 20,3 semanas con una dosis media de tetrabenazina de 57,9 mg/día. Hubo mejoras significativas, disminución en las puntuaciones medias tanto en la autoevaluación AIMS del paciente 60,4%, como en el subconjunto motor 54,2% AIMS evaluado por los evaluadores ciegos en video. Los 19 pacientes continuaron tomando tetrabenazina después del estudio.

En conclusión, la tetrabenazina es capaz de mejorar más de la mitad de los pacientes que sufren de discinesia tardía. Los efectos adversos causados por el fármaco son

somnolencia (25%), parkinsonismo (15%), depresión (7%), acatisia (7%) y, en menor grado insomnio. Todos estos efectos adversos son reversibles y mejoran con la disminución de la dosis (Martín-Carrasco, 2010). La dosis de tetrabenazina se encuentra de 25-200 mg/día, dividida en tres tomas. Se recomienda administrar por vía oral, con una dosis inicio de 12,5 mg al día; y aumentar 12,5 mg a la semana, repartiendo la administración del fármaco en 3 dosis al día hasta alcanzar el control de los movimientos o hasta alcanzar la dosis bien tolerada, cualquiera sea esta.

La **deutetrabenazina** es un derivado de la tetrabenazina producto de la deuterización, ambos pertenecen al grupo de fármacos que inhiben el transportador de monoaminas vesicular 2 (VMAT2). Es una molécula estructuralmente relacionada con el deuterio (un isótopo pesado del hidrógeno) ubicado en posiciones clave, que ha sido evaluado con éxito frente a un placebo (Huntington Study Group, 2016). La deuteración prolonga la vida media, reduce la variabilidad del metabolismo y se traduce en una dosificación menos frecuente, una dosis diaria más baja y una mejor tolerabilidad. El estudio FIRST-HD (<http://clinicaltrials.gov> identificador [NCT01795859](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT01795859)) apoya el concepto de una eficacia similar de la deutetrabenazina con respecto a la tetrabenazina, pero con menos efectos adversos y una dosificación más fácil (Reilmann y col., 2016). La diferencia fundamental con el fármaco madre es su vida media un poco más prolongada, 9-10 horas vs. las 5-7 horas de la tetrabenazina. Esto permite la administración del fármaco cada 12 horas contra cada 8 horas como en el caso de la tetrabenazina. Una revisión reciente destaca el potencial de la deutetrabenazina y la valbenazina como

opciones terapéuticas valiosas para la discinesia tardía en diversas poblaciones. Ambos medicamentos demostraron mejoras significativas en las puntuaciones de la Escala de Movimientos Involuntarios Anormales (AIMS), lo que sugiere su eficacia en el manejo de los síntomas de la discinesia tardía. Además, mostraron perfiles de seguridad favorables, con bajas tasas de eventos adversos graves y sin un aumento significativo en la prolongación del intervalo QT, el parkinsonismo, la ideación suicida, ni la mortalidad (Golsorkhi y col., 2024).

La **valbenazina** es el resultado de la optimización de la tetrabenazina mediante la esterificación de un residuo de valina, lográndose un compuesto más estable desde el punto de vista farmacocinético. Es el único tratamiento recomendado por la FDA (*Food and Drug Administration*) para el tratamiento de la discinesia tardía (FDA, 2017). Entre los estudios más importantes que apoyan su uso en el tratamiento de la discinesia tardía está el Kinect 3 (Hauser y col., 2017). Este ensayo aleatorio, doble ciego y controlado con placebo, de 6 semanas de duración, incluyó a pacientes con esquizofrenia, trastorno esquizoafectivo o trastorno del estado de ánimo que presentaban discinesia tardía moderada o grave. Los participantes fueron asignados aleatoriamente en una proporción de 1:1:1 a placebo una vez al día, valbenazina 40 mg/día o valbenazina 80 mg/día. El criterio principal de valoración de la eficacia fue el cambio desde el inicio hasta la semana 6, comparando los tres grupos usando la puntuación de discinesia de la Escala de Movimientos Involuntarios Anormales (AIMS) (*ítems 1 a 7*) según la observación de evaluadores ciegos de videos de los pacientes. La población estudiada incluyó

a 225 participantes de los cuales 205 completaron el estudio. Aproximadamente el 65% de los participantes tenían esquizofrenia o trastorno esquizoafectivo, y el 85,5% estaban recibiendo antipsicóticos concomitantes. El cambio de la media de los cuadrados mínimos desde el inicio hasta la semana 6 en la puntuación de discinesia de la AIMS fue de -3,2 para el grupo de 80 mg/día, en comparación con -0,1 para el grupo placebo, una diferencia significativa. La puntuación de la discinesia de la AIMS también se redujo en el grupo de 40 mg/día (-1,9 vs. -0,1 del grupo placebo). La incidencia de eventos adversos fue consistente con estudios previos.

La administración diaria de valbenazina mejoró significativamente la discinesia tardía en los participantes con esquizofrenia subyacente, trastorno esquizoafectivo o trastorno del estado de ánimo. La valbenazina fue generalmente bien tolerada y el estado psiquiátrico se mantuvo estable. Marder y col. (2019) llevaron a cabo un estudio abierto de 48 semanas, con un período de descanso de 4 semanas. La dosis se inició con 40 mg/día y se aumentó a 80 mg/día en la semana 4 según la eficacia y la tolerabilidad. Se aplicaron métodos de seguridad estándar, incluido el informe de eventos adversos emergentes del tratamiento (TEAE). Los resultados fueron satisfactorios con mejoría de los síntomas de la discinesia con ambas dosificaciones de 80-40 mg con una buena tolerancia a la medicación.

Las diferencias de la valbenazina con la tetrabenazina radican en su vida media de 15-22 horas, mucho más prolongada que la de la tetrabenazina, lo que permite la administración una vez al día. Por otro lado, a diferencia de otros inhibidores del VMAT-2 que tienen múltiples metabolitos,

la valbenazina tiene un solo metabolito y se espera que produzca menos efectos secundarios que la deutetabenazina o la tetrabenazina. También, existe una diferencia en cuanto a los efectos adversos, la valbenazina produce menos sedación y depresión que la tetrabenazina y una menor tendencia al suicidio. La deutetabenazina y la tetrabenazina están contraindicados en los pacientes que tengan insuficiencia hepática, los que reciban tratamiento con reserpina e inhibidores de la monoamino oxidasa. La valbenazina se puede usar en pacientes con insuficiencia hepática leve y en pacientes con insuficiencia renal leve y moderada (Takeuchi y col., 2022). Hasta ahora, en Venezuela no se dispone de ninguno de estos medicamentos para el tratamiento de la discinesia tardía.

Se han utilizado **anticolinérgicos**, antagonistas de los receptores M1 de acción central como el trihexifenidilo y el biperideno, en el tratamiento de la discinesia tardía. Existen pocos estudios controlados con placebo y éstos no demuestran la efectividad de los anticolinérgicos. Por otro lado, algunos autores consideran el tratamiento sistemático con fármacos anticolinérgicos como inútil, incluso peligroso, y si hay que emplearlo, el tratamiento no debe exceder los seis meses (Silver y col., 1995; Double y col., 1993; Vanegas y col., 2003).

Los **anticonvulsivantes** como el levetiracetam, un fármaco antiepiléptico de segunda generación ampliamente utilizado para diversos tipos de convulsiones, también ha sido utilizado en el tratamiento de la discinesia tardía. Generalmente no presenta efectos adversos graves, salvo problemas psiquiátricos, y presenta interacciones farmacocinéticas bastante limitadas con otros fármacos antiepilépticos. En los

estudios donde se utilizó este fármaco los grupos tratados con levetiracetam obtuvieron 43,5% y 44% menos puntajes en la Escala de Movimientos Involuntarios Anormales (AIMS), además de 44% menos puntajes de discinesia y 26% de mejoría en la Escala de Impresión Global Clínica (Qayyum Rana y col., 2013). Otro anticonvulsivante usado con éxito en la discinesia tardía es la zonisamida, un derivado del benzisoxazol (1,2-benzoxazol-3-ilmetanosulfonamida, ZNS). La zonisamida actúa bloqueando los canales neuronales de sodio dependientes de voltaje y los canales de calcio activados por bajo voltaje.

La **vitamina E** funciona en el organismo como un basurero (*scavenger*) de radicales libres de oxígeno y podría actuar como tal a nivel del sistema nervioso central, en situaciones donde existen procesos metabólicos con sobreproducción de especies reactivas de oxígeno y evitar la neurotoxicidad. La suplementación con vitamina E se ha evaluado como tratamiento de la discinesia tardía. Lohr y Caligiuri (1996) realizaron un estudio controlado, doble ciego, treinta y cinco pacientes completaron el estudio. Diecisiete de los pacientes fueron asignados aleatoriamente para recibir 800 UI de vitamina E dos veces al día y 18 fueron asignados a placebo durante 2 meses. Veintinueve pacientes tenían un diagnóstico de esquizofrenia y 6 de trastorno del estado de ánimo. Los pacientes fueron evaluados utilizando versiones modificadas de la Escala de Movimientos Involuntarios Anormales (mAIMS), la Escala de Simpson-Angus para efectos secundarios extrapiramidales y la Escala Breve de Calificación Psiquiátrica. Además, un subgrupo de 23 pacientes fue evaluado utilizando mediciones instrumentales de discinesia. Tanto en

la evaluación instrumental como en la mAIMS, la reducción general de la mAIMS en el grupo activo fue del 24%, y 5 (29%) de 17 pacientes tuvieron una reducción de la puntuación superior al 33%. Se observó una mayor reducción de la puntuación media de la mAIMS (35%) con vitamina E en el subgrupo de pacientes con discinesia tardía de 5 años de duración o menos, en comparación con la reducción (11%) en pacientes con discinesia tardía durante más de 5 años. Este grupo llegó a la conclusión que la vitamina E parece ser eficaz en reducir la gravedad de la discinesia tardía, especialmente en pacientes que habían tenido discinesia tardía durante 5 años o menos. Dabiri y col. (1996) evaluaron el uso de la vitamina E en once pacientes con discinesia tardía que fueron tratados en un estudio doble ciego con vitamina E o placebo durante 12 semanas. Se determinaron las puntuaciones en la Escala de Movimientos Involuntarios Anormales (AIMS) antes y después del tratamiento. Los pacientes que recibieron vitamina E mostraron una reducción significativa en su puntuación en la escala AIMS, pero los que recibieron placebo no mostraron cambios significativos. La vitamina E tuvo un efecto beneficioso incluso para los pacientes cuya discinesia tardía era leve y los de larga duración. Otros autores han concluido que la vitamina E usada en el tratamiento de la discinesia tardía no mejora los síntomas, pero si pudiera evitar el agravamiento del cuadro clínico, lo que sugiere un beneficio preventivo (Adler y col., 1999; Soares y McGrath, 2008).

El 5'-fosfato de piridoxal (P5P) o vitamina B6 funciona como coenzima en la transformación metabólica que involucra a diversos neurotransmisores, dopamina, GABA y serotonina. Esta vitamina también ha

sido usada en el tratamiento de la discinesia tardía. La base para su administración es, su participación en la transformación metabólica en los neurotransmisores involucrados en la generación de la enfermedad. Además, la vitamina B6 puede funcionar como basurero (*scavenger*) de la producción excesiva de especies reactivas de oxígeno y evitar la neurotoxicidad. Lerner y col. (2001) realizaron un estudio con quince pacientes hospitalizados con esquizofrenia que cumplían los criterios de diagnóstico de investigación para discinesia tardía. Los pacientes fueron asignados aleatoriamente a un tratamiento con vitamina B6 o con placebo durante 4 semanas en un estudio cruzado, doble ciego. Se utilizó la Escala de Calificación de Síntomas Extrapiramidales para evaluar a los pacientes semanalmente. Los resultados indicaron que las puntuaciones medias en las subescalas de parkinsonismo y movimiento discinético de la Escala de Calificación de Síntomas Extrapiramidales fueron significativamente mejores en la tercera semana de tratamiento con vitamina B6 que durante el período de placebo. Los investigadores concluyeron que la vitamina B6 parece ser eficaz en reducir los síntomas de discinesia tardía. Venegas y col. (2006) publicaron un estudio donde la piridoxina no fue superior al placebo en el tratamiento de la discinesia tardía. En este estudio se distribuyó al azar a 28 pacientes portadores de discinesia tardía severa y refractaria al tratamiento habitual. Los pacientes fueron distribuidos en dos grupos que recibieron piridoxina (500 mg/día) o placebo por 4 semanas, siguiendo un periodo de lavado de 7 días tras los cuales ambos grupos se cruzaron, manteniendo el tratamiento por 4 semanas adicionales. Se utilizó la escala AIMS para evaluar a cada paciente en las semanas 2 y 4 de cada etapa del

estudio. La piridoxina fue bien tolerada y no hubo efectos adversos en el periodo de estudio. La principal crítica a los estudios que han reportado mejoría con el uso de la vitamina B6, es el poco número de pacientes estudiados. Hasta ahora no se ha podido establecer la dosis ni la duración del tratamiento, también hay que tomar en cuenta que la administración prolongada de más de 1000 mg/día de la vitamina B6 puede producir neuropatía periférica (Muench y Hamer, 2010).

Ginkgo biloba 761. Los extractos de esta planta tienen propiedades antioxidantes y con actividad de basurero (*scavenger*) para las especies reactivas de oxígeno. Ha sido probado en el tratamiento de la discinesia tardía. El ginkgo biloba 761 fue utilizado en un estudio doble ciego, aleatorio, controlado con placebo, donde participaron 157 pacientes esquizofrénicos hospitalizados con discinesia tardía, por un período de 12 semanas. Resultó que el grupo tratado mostró una mejoría muy significativa frente al grupo control (Zhang y col., 2011). Por ahora no existe suficiente evidencia para considerar al ginkgo biloba 761 en el tratamiento de la discinesia tardía (Ricciardi y col., 2019).

La melatonina también ha sido implicada en el tratamiento de la discinesia tardía. El fundamento para su uso es que en esta patología existe un estado de hipersensibilidad del receptor dopaminérgico y un elevado estrés oxidativo que genera toxicidad nigroestriatal. Se ha demostrado que la melatonina inhibe la liberación de dopamina en áreas específicas del sistema nervioso central de mamíferos (hipotálamo, hipocampo, bulbo raquídeo-protuberancia y retina) y, además, ejerce actividades antidopaminérgicas en el cuerpo estriado. La melatonina puede modular las

vías dopaminérgicas implicadas en los trastornos del movimiento en humanos. Así, en pacientes con Parkinson, la melatonina puede, por un lado, exacerbar los síntomas (debido a su supuesta interferencia con la liberación de dopamina) y, por otro, proteger contra la neurodegeneración (gracias a sus propiedades antioxidantes y sus efectos sobre la actividad mitocondrial). La interacción de la melatonina con el sistema dopaminérgico puede desempeñar un papel significativo en el arrastre no fótico y fótico del reloj biológico, así como en el ajuste fino de la coordinación motora en el cuerpo estriado. Estas interacciones y la naturaleza antioxidante de la melatonina pueden ser beneficiosas en el tratamiento de trastornos relacionados con la dopamina como la discinesia tardía (Zisapel, 2021). Shamir y col. (2001) estudiaron el efecto de la melatonina en la discinesia tardía. Lo hicieron mediante un estudio cruzado, doble ciego, controlado con placebo y evaluaron la eficacia de 10 mg/día de melatonina durante 6 semanas en 22 pacientes con esquizofrenia y trastorno bipolar. El resultado principal fue el cambio con respecto al valor inicial en la puntuación de la Escala de Movimientos Involuntarios Anormales (AIMS). Se evidenció una disminución (media \pm D.E.) en la puntuación de la AIMS de $2,45 \pm 1,92$ para el grupo de melatonina y de solo $0,77 \pm 1,11$ para el grupo de tratamiento con placebo ($P < 0,001$). No se observó eventos adversos ni efectos secundarios. Se concluyó que la melatonina es eficaz en el tratamiento de la discinesia tardía. En la actualidad la evidencia existente no permite recomendar a la melatonina como terapia de la discinesia tardía (Ricciardi y col., 2019).

Las benzodiazepinas, y en especial el clonazepam, han sido utilizadas en el tratamiento de la discinesia tardía. Por lo

general se utiliza como una terapia asociada a la clozapina. Inicialmente se utilizó para generar sedación y efecto miorrelajante en el paciente, posteriormente se ha planteado que las benzodiazepinas corregirán las alteraciones de la inervación gabaérgica en el cuerpo estriado. La revisión de la literatura no revela trabajos que demuestren la mejoría de la discinesia tardía en pacientes tratados con benzodiazepinas (Bergman y col., 2018). Por otro lado, es importante tener en cuenta la pérdida de su efectividad por tolerancia, el poder adictivo de las benzodiazepinas, el síndrome de retirada y los efectos adversos como la sedación y ataxia, que limitan su utilidad clínica.

La **toxina botulínica**, bloquea la transmisión sináptica en la placa motora y su administración a nivel muscular produce una quimiodenervación que impide la contracción muscular relajando aquellos grupos musculares que se contraen anormalmente. Se utiliza en aquellos casos de la enfermedad que tiene una afectación más focal.

INTERVENCIONES NO-FARMACOLÓGICAS

La estimulación cerebral profunda y la terapia electroconvulsiva han sido utilizadas en el tratamiento de la discinesia tardía. La mayoría de los trabajos reportados se refieren a casos clínicos aislados y algunas series de pacientes, no muy grandes, que han mostrado resultados satisfactorios. Por ahora, la calidad de los trabajos no facilita llegar a una conclusión que permita recomendarlo como tratamiento de la discinesia tardía.

En conclusión, la discinesia tardía es un cuadro clínico que complica el uso de los antipsicóticos. Cuando se deja evolucionar

sin ningún tipo de tratamiento el pronóstico es muy malo, cuando esto sucede los síntomas no revierten y su intensidad no se atenúa. El uso de antipsicóticos atípicos y los compuestos que depletan a la dopamina producen mejoría del cuadro clínico, pero raramente la desaparición de la discinesia tardía (Vanegas y col., 2003).

El tratamiento de la discinesia tardía es un proceso multidisciplinario que puede incluir la reducción o suspensión de la medicación antipsicótica, el uso de medicamentos para tratar los síntomas, la consideración de otros tratamientos como la estimulación cerebral profunda, el apoyo psicológico y las terapias físicas, y la prevención de la discinesia tardía a través de la utilización de la dosis mínima eficaz de antipsicóticos y el cambio a clozapina si es necesario.

Conflicto de interés

Los autores declaran que no existe conflicto de interés.

Referencias Bibliográficas

- Adler LA, Rotrosen J, Edson R, Lavori P, Lohr J, Hitzemann R, Raisch D, Caligiuri M, Tracy K. 1999. Vitamin E treatment for tardive dyskinesia. Veterans Affairs Cooperative Study #394 Study Group. *Arch Gen Psychiatry* 56: 836-841.
- Barberán Navalón M, Pascua MAL, Sorribes Molina MG, Pedrós Roselló A. 2014. Discinesia tardía. Una revisión clínica y terapéutica. *Biol Psiquiatría* 21 (1): 9-13.
- Barnes TR. 1987. The present status of tardive dyskinesia and akathisia in the treatment of schizophrenia. *Psychiatric Dev* 4:310-319.
- Bergman H, Rathbone J, Agarwal V, et al. 2018. Antipsychotic reduction and/or cessation and antipsychotics as specific treatments for tardive dyskinesia. *Cochrane Database Syst Rev* 2: CD000459.
- Bergman H, Thaman P, Bhupathi S, Soares-Weiser K. 2018. Benzodiazepines for antipsychotic-induced tardive dyskinesia. *Cochrane Database Syst Rev* 1(1):CD000205.
- Betermiez P, Delahousse J, Pedinielli JL. 1986. Les anti-cholinergiques au cours des traitements neuroleptiques. Intérêt et sevrage. *Encephale* 12(4):169-74.
- Carbon M, Hsieh CH, Kane JM, Correll CU. 2017. Tardive Dyskinesia Prevalence in the Period of Second-Generation Antipsychotic Use: A Meta-Analysis. *J Clin Psychiatry* 78(3):e264-e278.
- Carbon M, Kane JM, Leucht S, Correll CU. 2018. Tardive dyskinesia risk with first- and second-generation antipsychotics in comparative randomized controlled trials: a meta-analysis. *World Psychiatry* 17(3):330-340.
- Cho CH, Lee HJ. 2013. Oxidative stress and tardive dyskinesia: pharmacogenetic evidence. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 46:207-13.
- Dabiri LM, Pasta D, Darby JK, Mosbacher D. 1994. Effectiveness of vitamin E for Treatment of long-term tardive dyskinesia, *American Journal Psychiatry* 151(6):925-926.
- Double DB, Warren GC. 1993. Evans M, Rowlands MP. Efficacy of maintenance use of anticholinergic agents. *Acta Psy Scan* 88: 381-384.
- García Campayo J, Alda M. 2003. Elementos básicos de Etnopsicofarmacología. *Actas Esp Psiquiatr* 31(3):156-162.
- Ganzini L, Heintz RT, Hoffman WF, Casey DE. 1991. The prevalence of tardive dyskinesia in neuroleptic-treated diabetics. A controlled study. *Arch Gen Psychiatry* 48: 259-263.
- Golsorkhi M, Koch J, Pedouim F, Frei K, Bondariyan N, Dashtipour K. 2024. Comparative Analysis of Deutetrabenazine and Valbenazine as VMAT2 Inhibitors for Tardive Dyskinesia: A Systematic Review. *Tremor Other Hyperkinet Mov (N Y)* 14:13.
- Haile K, Umer H. 2019. The use of clozapine and clonazepam co-administration in the treatment of a severe tardive dyskinesia: A case report. *SAGE Open Med Case Rep* 25:7-9.
- Hauser RA, Factor SA, Marder SR, Knesevich MA, Ramirez PM, Jimenez R, Burke J, Liang GS, O'Brien CF. 2017. KINECT 3: a phase 3 randomized, double-blind, placebo-controlled trial of valbenazine for tardive dyskinesia. *American Journal of Psychiatry* 174(5): 476-484.
- Hazari N, Kate N, Grover S. 2013. Clozapine and tardive movement disorders: A review. *Asian Journal of Psychiatry* 6(6): 439-451.

- Huntington Study Group; Frank S, Testa CM, Stamler D, Kayson E, Davis C, Edmondson MC, Kinel S, Leavitt B, Oakes D, O'Neill C, Vaughan C, Goldstein J, Herzog M, Snively V, Whaley J, Wong C, Suter G, Jankovic J, Jimenez-Shahed J, Hunter C, Claassen DO, Roman OC, Sung V, Smith J, Janicki S, Clouse R, Saint-Hilaire M, Hohler A, Turpin D, James RC, Rodriguez R, Rizer K, Anderson KE, Heller H, Carlson A, Criswell S, Racette BA, Revilla FJ, Nucifora F Jr, Margolis RL, Ong M, Mendis T, Mendis N, Singer C, Quesada M, Paulsen JS, Brashers-Krug T, Miller A, Kerr J, Dubinsky RM, Gray C, Factor SA, Sperin E, Molho E, Eglow M, Evans S, Kumar R, Reeves C, Samii A, Chouinard S, Beland M, Scott BL, Hickey PT, Esmail S, Fung WL, Gibbons C, Qi L, Colcher A, Hackmyer C, McGarry A, Klos K, Gudesblatt M, Fafard L, Graffitti L, Schneider DP, Dhall R, Wojcieszek JM, LaFaver K, Duker A, Neefus E, Wilson-Perez H, Shprecher D, Wall P, Blindauer KA, Wheeler L, Boyd JT, Houston E, Farbman ES, Agarwal P, Eberly SW, Watts A, Tariot PN, Feigin A, Evans S, Beck C, Orme C, Edicola J, Christopher E. 2016. Effect of Deutetrabenazine on Chorea Among Patients with Huntington Disease: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* 316(1):40-50.
- Jankovic J, Beach J. 1997. Long-term effects of tetrabenazine in hyperkinetic movement disorders. *Neurology* 48(2):358-62.
- Kane JM, Smith JM. 1982. Tardive dyskinesia: prevalence and risk factors, 1959 to 1979. *Arch Gen Psychiatry* 39:473-481.
- Kane JM, Woerner M, Lieberman J. 1988. Tardive dyskinesia: prevalence incidence, and risk factors. *J Clin Psychopharmacology* 8: 52S-56S.
- Lerner V, Miodownik C, Kapsan A, Cohen H, Matar M, Loewenthal U, Kotler M. 2001. Vitamin B(6) in the treatment of tardive dyskinesia: a double-blind, placebo-controlled, crossover study. *Am J Psychiatry* 158(9):1511-4.
- Lindamer L, Lacro JP, Jeste DV. Relationship of ethnicity to the effects of antipsychotic medication. En: Herrera JM, Lawson WB, Srameck JJ, editors. *Cross-cultural psychiatry*. New York: Wiley, 1999; p. 193-203.
- López Gómez D. 2020. Discinesia tardía inducida por antipsicóticos. Disponible en: <https://www.menteamente.com/blog-salud-mental/discinesia-tardia-antipsicoticos>
- Lohr JB, Caligiuri MP. 1996. A double-blind placebo-controlled study of vitamin E treatment of tardive dyskinesia. *J Clin Psychiatry* 57: 167-173.
- Marder SR, Singer C, Lindenmayer JP, Tanner CM, Comella CL, Verghese C, Jimenez R, Liang GS, Burke J, O'Brien CF. 2019. A phase 3, 1-year, open-label trial of valbenazine in adults with tardive dyskinesia. *Journal of Clinical Psychopharmacology* 39(6): 620-627.
- Martín-Carrasco M. 2010. Tetrabenazina en los trastornos del movimiento. *Psicogeriatría* 2(1): 3-14.
- Micó Segura A, Berrocoso Domínguez E, Gibert-Rahofa J. *Fármacos antipsicóticos*. En Velázquez Farmacología Básica y Clínica. 2017, 19a Edición. Editorial Médica Panamericana SA. Buenos Aires, Argentina. PP-287-298.
- Muench J, Hamer AM. 2010. Adverse effects of antipsychotic medications. *Am Fam Physician* 81: 617-622.
- Nilsson A, Waller L, Rosengren A, Adlerberth A, Wilhelmsen L. 1997. Cigarette smoking is associated with abnormal involuntary movements in the general male population - A study of men born in 1935. *Biol Psychiatry* 41:717-723.
- NINDS 2014. Tardive Dyskinesia Information Page. National Institute of Neurological Disorders and Stroke. <http://www.ninds.nih.gov/disorders/tardive/tardive.htm>.
- Ondo WG, Hanna PA, Jankovic J. 1999. Tetrabenazine treatment for tardive dyskinesia: assessment by randomized videotape protocol. *Am Journal of Psych* 156(8):1279-81.
- Pazos A, Pascual J. *Farmacología de los movimientos anormales. Fármacos antiespásticos*. En *Farmacología Humana de Jesús Flórez*. 2013. Sexta Edición. Editora Elsevier Masson. Barcelona, España.
- Qayyum Rana A, Chaudry Z, Blanchet P. 2013. New and Emerging Treatments for Symptomatic Tardive Dyskinesia. *Drug Design, Development and Therapy* 7:1329-1340.
- Reilmann R. 2016. Deutetrabenazine-Not a Revolution but Welcome Evolution for Treating Chorea in Huntington Disease. *JAMA Neurol* 73(12):1404-1406.
- Ricciardi L, Pringsheim T, Barnes TRE, Martino D, Gardner G, Remington G, Addington D, Morgante F, Poole N, Carson A, Edwards M. 2019. Treatment recommendations for tardive dyskinesia. *Can J Psychiatry* 64(6): 388-399.
- Small JG, Milstein V, Marhenke JD, Hall DD, Kellams JJ. 1987. Treatment outcome with clozapine in tardive dyskinesia, neuroleptic sensitivity, and treatment-resistant psychosis. *J Clin Psychiatry* 48: 263-267.

- Soares KVS, McGrath JJ. 2018. Vitamina E para la discinesia tardía inducida por neurolépticos. Revisión del sistema de bases de datos Cochrane. 2018(1):CD000209.
- Shamir E, Barak Y, Shalman I, Laudon M, Zisapel N, Tarrasch R, Elizur A, Weizman R. 2001. Melatonin treatment for tardive dyskinesia: a double-blind, placebo-controlled, crossover study. *Arch Gen Psychiatry* 58:1049-1052.
- Shrivastava M, Solanke B, Dakhale G, Somani A, Waradkar P. 2009. Relapse of tardive dyskinesia due to reduction in clozapine dose: a case report. *Indian J Pharmacol* 41(4): 201-202.
- Silver H, Gerais Y, Schwartz M. 1995. No difference in the effect of biperiden and amantadine on Parkinsonian and tardive dyskinesia-type involuntary movements: a double-blind crossover, placebo-controlled study in medicated chronic schizophrenic patients. *J Clin Psychiatry* 56:167-170.
- Spivak B, Mester R, Abeshaus NJ, Wittenberg N, Adlersberg S, Gonen N, Weizman A. 1997. Clozapine treatment for neuroleptic-induced tardive dyskinesia, parkinsonism, and chronic akathisia in schizophrenic patients. *J Clin Psychiatry* 58: 318-322.
- Takeuchi H, Mori Y, Tsutsumi Y. 2022. Pathophysiology, prognosis and treatment of tardive dyskinesia. *Ther Adv Psychopharmacology* 12:1-20.
- Tardive Dyskinesia. NORD. February 2012; <http://www.rarediseases.org/rare-disease-information/rare-diseases/byID/493/viewFullReport>.
- Tarsy D, Baldessarini RJ. 2006. Epidemiology of tardive dyskinesia: Is risk declining with modern antipsychotics?. *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society* 21(5):589-598.
- Venegas P, Millán ME, Miranda M. 2003. Disquinesia tardía. *Rev Chil Neuro Psiquiatr* 41 (2):131-138.
- Venegas P, Sinning M, Millán M, Miranda M, Robles I, Astudillo P, Peña S. 2006. Piridoxina en el manejo de Disquinesias Tardías: Un estudio placebo controlado, randomizado, doble ciego y cruzado. *Rev Chil Neuro-Psiquiatr* 44(1): 9-14.
- Waln O, Jankovic J. 2013. An update on tardive dyskinesia: from phenomenology to treatment. *Tremor Other Hyperkinet Mov* 3: 4138.
- Wittenberg N, Stein D, Barak Y, Achiron A. 1996. Clozapine and tardive dyskinesia: analysis of clinical trials. *Pathophysiology* 3: 241-245.
- Yassa R, Ananth J. 1981. Familial tardive dyskinesia. *Am J Psychiatry* 138: 1618-1619.
- Zai CC, Maes MS, Tiwari AK, Zai GC, Remington G, Kennedy JL. 2018. Genetics of tardive dyskinesia: promising leads and ways forward. *J Neurol Sci* 389: 28-34.
- Zhang WF, Tan YL, Zhang XY, Chan RC, Wu HR, Zhou DF. 2011. Extract of Ginkgo biloba treatment for tardive dyskinesia in schizophrenia: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Clin Psychiatry* 72(5):615-21.
- Zisapel N. 2001. Melatonin-dopamine interactions: from basic neurochemistry to a clinical setting. *Cell Mol Neurobiol* 21(6):605-16.



Antimalarial activity of aqueous extract from the species *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Srpeng growing in Venezuela

Actividad antimalárica del extracto acuoso de la especie *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Srpeng cultivada en Venezuela

MARÍA E ACOSTA^{*1}, NEIRA GAMBOA DE DOMÍNGUEZ^{*2}, MARÍA A OSUNA^{**3},
KATUSKA CHÁVEZ^{***4}, ALÍRICA I. SUÁREZ^{***5}

Abstract

Plectranthus amboinicus, a medicinal species belonging to the Lamiaceae family, currently classified under the scientific name *Coleus amboinicus* Lour, it is widely distributed and recognized worldwide. However, its exact origin remains uncertain, with both India and Africa frequently cited as potential sources. Extensive literature reports highlight the pharmacological activity of its extracts and essential oils, which have been studied in various regions and cultures. In Venezuela, this plant is used as a diuretic and is traditionally used to treat ailments such as fever, cough, digestive disorders, and headaches. Due to its pleiotropic effects, the antimalarial activity of an aqueous extract obtained by the decoction of its leaves was determined in mice infected with *Plasmodium berghei*, in addition to evaluating its risk-benefit balance through toxicological parameters that demonstrate that it has no hepatotoxic or hemotoxic effects. The results obtained in mice infected with *Plasmodium berghei* indicated that although a reduction in parasite density and an increase in post-infection survival was observed, this was not comparable to that observed in the control group treated with Chloroquine, suggesting that the aqueous extract does not have antimalarial properties. However, it could be used as an adjuvant with other conventional antimalarial drugs currently used in therapeutics.

Keywords: *Plectranthus amboinicus*, antimalarial activity, toxicity, biochemical parameters

Resumen

Plectranthus amboinicus, perteneciente a la familia Lamiaceae, cuyo nombre ha sido actualizado científicamente a *Coleus amboinicus* Lour, es una especie medicinal conocida a nivel mundial, aunque su origen es aún incierto, se usan frecuentemente las de India y África. Amplios reportes en la literatura dan cuenta de la reconocida actividad farmacológica de extractos y aceites esenciales obtenidos de diferentes lugares y culturas alrededor del mundo. En Venezuela se utiliza para la fiebre, tos, cefalea, trastornos digestivos y como diurético. Por sus efectos pleiotrópicos, se procedió a determinar la actividad antimalárica de un extracto acuoso obtenido por decocción de sus hojas en ratones infectados con *Plasmodium berghei*, además de evaluar su balance riesgo-beneficio a través de parámetros toxicológicos que demuestran que el mismo no tiene efectos hepatotóxicos ni hemotóxicos. Los resultados obtenidos en ratones infectados con *Plasmodium berghei*, indicaron que a pesar de que se observó una reducción de la densidad parasitaria y un incremento en los días de supervivencia post infección, no es similar a la observada en el grupo control tratado con cloroquina, sugiriendo que el extracto acuoso no tiene propiedades antimaláricas. Sin embargo, podría ser utilizado como coadyuvante con otros medicamentos antimaláricos convencionales utilizados en la terapéutica actual.

Palabras clave: *Plectranthus amboinicus*, actividad antimalárica, toxicidad, parámetros bioquímicos

*Unidad de Bioquímica. Facultad de Farmacia. UCV. Correspondencia: mariuacosta0103@gmail.com. **Escuela José María Vargas. Facultad de Medicina. UCV ***Unidad de Productos Naturales, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.

Orcid: [!0000-0003-0721-0046](https://orcid.org/0000-0003-0721-0046)

²[0000-0002-9918-0413](https://orcid.org/0000-0002-9918-0413)

³[0009-0007-7077-7658](https://orcid.org/0009-0007-7077-7658)

⁴[0000-0005-4103-9799](https://orcid.org/0000-0005-4103-9799)

⁵[0000-0002-3317-5179](https://orcid.org/0000-0002-3317-5179)

DOI: [10.54305/RFFUCV.2025.88.1-2.5](https://doi.org/10.54305/RFFUCV.2025.88.1-2.5)

Disponible: http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_ff

Recepción: 09/04/2025

Aprobación: 17/04/2025

Rev. Fac. Farmacia 88(1): 42-51. 2025

Introduction

Medicinal plants, known for their well-documented pharmacological properties, are found across the globe. In recent years, especially after the COVID-19 pandemic, the world has witnessed a resurgence of interest in traditional medicine. Millions of people have relied on these plants for survival, reaffirming the value of ancient healing knowledge (Al-Jamal et al., 2024; Mukherjee et al., 2022; Villena-Tejada et al., 2021). The scientific community must further investigate and validate the purported benefits of the hundreds of plant species commonly used by populations worldwide, particularly in regions where access to public healthcare remains inadequate.

Plectranthus amboinicus-whose origins are still debated, with some sources suggesting India or Africa- has spread globally, especially in tropical zones. Recently reclassified by botanists as *Coleus amboinicus* Lour., this species belongs to the Lamiaceae family, which is widely recognized for the medicinal properties of its secondary metabolites (Nascimento Martinez et al., 2020).

In Venezuela, *P. amboinicus* is used to treat various diseases and ailments, including asthma, colds, kidney stones, headaches, skin diseases, digestive and cardiovascular diseases, and fever. It is also a culinary condiment (Orsini, 2020; Orsini and Tillet, 2019). In other countries, its applications are even broader, encompassing antiviral, antifungal, antitumor, analgesic, anti-inflammatory, and wound-healing properties, as well as the treatment of genitourinary disorders, asthma, and skin diseases, among others. Despite its wide-

ranging uses, few reviews in the literature document the pharmacological properties, phytochemistry, and applications of this remarkable species (Arumugan et al., 2016; Asiinwee et al., 2014; Chang et al., 2007; Kumar et al., 2020).

Phytochemical studies of this plant have revealed the presence of various secondary metabolites, including flavonoids, with flavones being the most common, as well as triterpenes, sterols, aromatic organic acids, and lignans (Ruan et al., 2019). The composition of its essential oil has been investigated in multiple regions, including Venezuela (Blasio et al., 2025; Gupta et al., 2024; Han et al., 2023; Valera et al., 2003). Key compounds identified in these studies include carvacrol, germacrene D, α -humulene, α -terpinene, p-cymene, thymol, terpinen-4-ol, and caryophyllene.

Malaria remains a major global health challenge, with approximately 40% of the world's population at risk of infection. Despite significant research efforts to develop effective treatments and preventive measures, including some notable successes factors such as vector resistance, the lack of new therapeutic targets, poor living conditions in endemic regions, and globalization continue to hinder malaria eradication (Daskum et al., 2021; Siqueira-Neto et al., 2023; Tse et al., 2021). Medicinal plants remain a valuable therapeutic source for longstanding and emerging diseases. The most successful antimalarial compounds, such as artemisinin and quinine, have been derived from plants. Additionally, synthetic drugs inspired by these natural products play a critical role in current therapies, saving millions of lives annually (Dhamaliya et al., 2023; Kretli et al., 2021).

In regions such as Africa, Asia, and South America, a wide variety of plants are traditionally used to treat malaria. Many of these plants have been scientifically investigated (Erhirhie et al., 2021; Ribeiro et al., 2023; Tajbakhsh et al., 2021; Wright, 2005; Uzor et al., 2020a, 2020b), and research in this field continues with the hope of discovering new potential treatments for the disease.

To contribute to the ongoing search for antimalarial sources and considering the pivotal role of plant-derived natural products in antimalarial drug discovery (Alkandahri et al., 2022; Pan et al., 2018), we investigated *Coleus amboinicus* (known as oregano orejón in Venezuela) for its antiprotozoal potential. Specifically, this study used Peter's test to evaluate the antiplasmodial activity of its aqueous leaf extract against *Plasmodium berghei* infection.

Materials and Methods

PLANT MATERIAL

The leaves of *C. amboinicus* were harvested in the city of Carrizal, Carrizal municipality, Miranda state, during the morning hours at a height of 1.50 cm from the ground. The leaves were then selected and taxonomically characterized. The plant was authenticated, and a voucher specimen was deposited at the Herbarium Victor Manuel Ovalles de la Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela under number 29535. Fresh leaves (30g) were cut into small pieces and submitted to decoction in an Erlenmeyer of 250 mL, using 50 mL of distilled water. The decoction process was kept for 15 minutes; the solution was filtered, cooled, and submitted to a

lyophilization process to obtain a brown solid (1.56 g) reconstituted in distilled water at the moment of the experiment. This extract was named the aqueous extract of *Coleus amboinicus* (AE).

QUALITATIVE PHYTOCHEMICAL SCREENING

The powdered extract was submitted to a phytochemical screening to detect the presence of the family of major secondary metabolites, such as flavonoids, alkaloids, and terpenes, using standard procedures (Solansky et al., 2019).

CHEMICAL AND REAGENT

The reagents used are of high analytical quality, available in the country and/or acquired from SIGMA-Aldrich Chemical Co and STANBIO Laboratory. Cloroquine (CQ) was purchased from SIGMA-Aldrich Chemical Co. Lote 109H109.

EXPERIMENTAL ANIMALS

Twenty male mice of the INH strain, weighing between 18 and 20 g, from the "Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel" were used. The animals were kept in cages with 12 hours of light/darkness, with water and food (ratarina[®]) *ad libitum*. The research complied with the bioethical standards contained in the Principles of Laboratory Animal Care Guide (Anonymous, 1985).

DOSE TO BE USED IN ANTIMALARIAL ACTIVITY

The dose of CQ was selected based on an *in vivo* study in mice (Acosta and Gamboa, 2017), in which CQ has biological effects at

doses of 15 and 25 mg/Kg of body weight by i.p. The aqueous extract doses (EA dose) were 250, 500, and 1000 mg/Kg of body weight. The dose was selected based on an *in vivo* study in mice (Ramli et al., 2014).

MICE INFECTION

Mice were infected i.p. with 1×10^6 parasitized erythrocytes diluted in physiological solution (0.9% NaCl). The course of parasitemia was monitored through peripheral blood smears of infected animals stained with Giemsa and observed by light microscopy.

PREPARATION OF PERIPHERAL BLOOD SMEARS AND DETERMINATION OF PARASITEMIA

A drop of blood was taken from a transverse incision at the end of the tail of the infected mouse and placed on a slide. Using another slide, a thin, uniform blood smear was made along the slide by sliding it at a 45° angle. The dried smear, fixed with methanol and heat, was stained with Giemsa (1:1) using the inversion technique for 20 minutes, washed with distilled water to remove excess stain, and allowed to dry. The slides were observed by light microscopy with a 100X objective in immersion oil. At least five fields were counted (approximately 500 red blood cells), and parasitemia was determined and expressed as a percentage (infected erythrocytes per 100 erythrocytes).

ANTIMALARIAL ACTIVITY

The treatment of animals with no patent infection was carried out using the Peter Test (1975).

The experimental design included the following groups.

Treatments	Doses
Healthy control	NaCl 0.9%
Infected control	NaCl 0.9%
Aqueous extract (AE) 250	250mg/Kg
Aqueous extract (AE) 500	500 mg/Kg
Aqueous extract (AE) 1000	1000 mg/Kg

Two hours after infection, four mice per group were treated once a day for five days with 0.1 mL of the indicated compound. On day 5 post-infection and post-treatment, parasite density was determined by microscopic examination of peripheral blood smears. Additionally, a record of post-infection survival days (PSD) was kept for 30 days.

DETERMINATION OF REDUCED AND OXIDIZED GLUTATHIONE (GSH/GSSG) LEVELS

The method originally described by Tietz (1969) was used, in which GSH reacts with dinitrobenzene (DTNB), forming a yellow complex that absorbs at 405 nm with the subsequent oxidation of NADPH.

CATALASE DETERMINATION

Catalase activity was determined according to Aebi's method (1982), following the degradation of H_2O_2 by catalase present in the sample. Briefly, in a quartz cell, 25 μ L of the 1.33-fold diluted sample was placed in 10 mM phosphate buffer (pH 7), 725 μ L of 7.7 mM H_2O_2 was added, and the absorbance change at 240 nm was immediately measured at 15 and 30 seconds. According to Aebi, the first-order reaction constant (k) was used as the unit of CAT activity, which was defined according to

the following formula: $k = (1/t) (2.3 \times \log A1 / A2)$, where t is the measured time interval (sec), $A1$ and $A2$ are the H_2O_2 absorbances at times $t1$ and $t2$. The results were expressed as k/mg of protein.

PROTEIN DETERMINATION

The protein concentration was determined using the Lowry method (1951), which was adapted to 96-well microplates, to estimate the specific activity.

DETERMINATION OF HEPATOTOXICITY MARKERS IN SERUM

The activity of some specific liver isoenzymes, such as Aspartate aminotransferase (AST), Alanine aminotransferase (ALT), and gamma-glutamyl transpeptidase (GGT), was determined in serum using kits from SIGMA-Aldrich Chemical Co.

ERYTHROCYTE LYSIS ASSAY

One toxicity assessment method is based on measuring hemoglobin efflux from suspended red blood cells. The ability of CQ and AE to induce red blood cell lysis was assessed as a marker of blood toxicity (Mehta et al., 1984). Erythrocyte lysis by plant extracts or compounds, is considered a standard protocol for assessing the *in vitro* toxicity of new substances and was determined by measuring the hemoglobin released at 550 nm, at the concentrations of the compounds to be tested (0.1, 1 and 10 $\mu g/mL$) at 37°C for 45 minutes. The results were expressed as a percentage of hemolysis of each concentration of the compounds tested. Hemolytic activity was evaluated

using the following ranges: 0% - 9% = Non-toxic, 10% - 49% = slightly toxic, 50 - 89% = Toxic, and 90% to 100% = highly toxic.

Statistical Analysis

Results were presented as the mean \pm standard error of the mean ($X \pm SEM$). Data were analyzed using Prism v.8 software (Graph Pad, San Diego, CA, USA) using the unpaired Student t-test. P values <0.05 were considered statistically significant.

Results and Discussion

EVALUATION OF THE ANTIMALARIAL EFFECT IN A MODEL OF PATENT INFECTION (PETER'S TEST)

Table I shows the changes in the percentage of parasitemia on the fifth day post-infection and the survival of mice in the treatment groups compared to the infected and control groups.

Chloroquine significantly increased survival days and reduced parasitemia ($p < 0.01$). At the three doses evaluated, treatment with AE significantly increased survival days ($p < 0.05$) compared with the control healthy or infected groups, but less than the effect of CQ. Regarding parasitemia, AE at the three doses evaluated had a significantly decreasing effect ($p < 0.05$) compared with the infected control group; however, the magnitude was smaller than the effect of CQ. It is suggested that AE is ineffective for treating malaria because it does not cure the infection and reduces the animal's survival days. Therefore, the test should be carried out in combination with conventional antimalarial drugs because, at all doses tested, the parasitemia was reduced, indicating that the AE may be effective as an adjuvant treatment.

Table I.

Modifications in the percentage of parasitemia and days of survival post-infection of mice infected with *Plasmodium berghei*, treated with CQ, and AE from the leaves of *Plecthantus amboinicus*

Treatments	Survivance days S.E.M	% of Parasitemia S.E.M
Healthy control	30.0	0.00
Infected control	7.5 ± 0.23**	90.4 ± 0.15
CQ (25 mg/Kg)	29.2 ± 0.53**	1.23 ± 0.25**
Aqueos extract (AE) (250 mg/Kg)	10.43 ± 0.24*	12.50 ± 0.27**
Aqueous extract (AE) (500 Kg/mg)	11.22 ± 0.56*	10.67 ± 0.25**
Aqueos extract (AE) (1000 mg/Kg)	13.35 ± 0.13*	9.65 ± 0.26**

**p<0.05; *p<0.001 in relation to the infected control

DETERMINATION OF TOTAL GLUTATHIONE LEVELS (GSH+GSSG)

Glutathione represents an essential defense mechanism of parasites against oxidative stress generated during infection. Table II shows the changes in blood levels of GSH, GSSG, and GSH+GSSG (total glutathione).

The total glutathione levels shown in Table II indicate that malaria infection produces a significant increase in GSH and GSSG values, which could represent compensatory mechanisms to control the oxidative trigger that occurs in the infection. AE at different concentrations reduced GSH and GSSG infection-induced values,

obtaining similar levels to what is observed with healthy controls; that is, they had the capacity to normalize the blood glutathione levels of infected animals towards the values corresponding to healthy controls. The depleting effect of AE on GSH, GSSG, and total glutathione (GSH+GSSG) levels is also evident. Meanwhile, CQ had a slight effect on reducing concentrations of GSH and GSSG infection-induced values; however, this was statistically significant.

DETERMINATION OF CATALASE (CAT) LEVELS

Table III shows the specific activity values of one of the first-line antioxidant defense enzymes, catalase, and its modifications

Table II.

Levels of reduced glutathione (GSH) and oxidized glutathione of mice infected with CQ and AE from the leaves of the *Plecthantus amboinicus*

Treatments	GSH (U/mg proteins x 10 ⁴ ± S.E.M)	GSSG (U/mg proteins x 10 ⁴ ± S.E.M)	Glutathión Total (U/mg proteína x 10 ⁴ ± S.E.M)
Healthy control	0.95 ± 0.05	22.37 ± 0.15	23.32 ± 0.18
Infected control	1.95 ± 0.13**	49.13 ± 0.18**	51.08 ± 0.10**
CQ (25 mg/Kg)	1.25 ± 0.43	39.25 ± 0.23**	40.50 ± 0.25**
AE (250mg/Kg)	0.93 ± 0.14	23.48 ± 0.23	24.41 ± 0.25
AE (500 Kg/mg)	0.83 ± 0.02	27.07 ± 0.26	27.90 ± 0.25
AE(1000 mg/Kg)	0.99 ± 0.05	28.05 ± 0.20	29.04 ± 0.16

**p<0.05; *p<0.001 compared with healthy control

Table III.

Catalase (CAT) activity of mice infected with *Plasmodium berghei*, treated with CQ and AE from *Plecthantus amboinicus* leaves

Treatments	CAT (U/mg proteins x 10 ⁻² S.E.M)
Healthy control	12.35 ± 0.15
Infected control	3.20 ± 0.10**
CQ (25 mg/Kg)	4.13 ± 0.33**
AE (250 mg/Kg)	4.33 ± 0.24**
AE (500 mg/Kg)	4.79 ± 0.22**
AE (1000 mg/Kg)	5.89 ± 0.15**

**p<0.05 compared with healthy control

due to the effects of both infection and treatments.

Plasmodium berghei infection produced a significant decrease in CAT levels. AE tends to counteract the inhibitory effect, similar to CQ, which could lead to a failure to promote the generation of hydroxyl radicals and consequently generate oxidative stress. However, the reduction of CAT levels was significant compared to the healthy group, indicating a very poor action of CQ or the three doses of the aqueous extract from the species *Plectranthus amboinicus* (Lour.) in restoring the antioxidant capacity.

DETERMINATION OF AST, ALT AND GGT

To evaluate the hepatotoxic effects of the different treatments, the levels of the liver damage marker enzymes (AST, ALT, and GGT) in the serum of the treated animals in relation to their *Plasmodium berghei* infection controls were assessed. The results obtained are expressed in Table IV.

The results show that malaria infection significantly increases serum AST, ALT, and GGT levels, so the damage to liver tissue during malaria infection is evident. Treatment of infected animals for 5 days with CQ reduced the levels of AST, ALT, and GGT in relation to the infected control. Evaluation of different concentrations of AE produces a decrease in the levels of AST, ALT, and GGT in relation to the infected control, observing values that tend to normalize in relation to the results obtained by the healthy control.

These data indicate that the aqueous extract from the species *Plectranthus amboinicus* (Lour.) significantly reduces the hepatotoxic effect of *Plasmodium berghei* infection and supports the notion that AE, *per se*, is not hepatotoxic.

Table IV.

Serum ALT, AST and GGT levels of *Plasmodium berghei*-infected mice treated with CQ and AE from the leaves of the *Plecthantus amboinicus* leaves

Treatments	ALT (UI) E.E.M	AST (UI) E.E.M	GGT (UI) E.E.M
Healthy control	59.10 ± 0.12	27.36 ± 0.25	36.84 ± 0.14
Infected control	149.60 ± 0.23**	59.10 ± 0.28**	86.97 ± 0.16**
CQ (25 mg/Kg)	71.25 ± 0.53	29.25 ± 0.53	37.25 ± 0.35
AE (250mg/Kg)	72.58 ± 0.24	32.54 ± 0.23	37.53 ± 0.15
AE 500 Kg/mg)	74.22 ± 0.22	39.21 ± 0.36*	38.67 ± 0.25
AE (1000 mg/Kg)	62.27 ± 0.23	40.87 ± 0.20*	40.15 ± 0.26*

**p<0.05; *p<0.001 compared with healthy control

IN VITRO HEMOLYSIS ASSAY

To determine the hemotoxic potential of the compounds, an *in vitro* erythrocyte lysis assay was performed at three concentrations (0.1, 1 and 10 $\mu\text{g/mL}$). It should be noted that all the compounds tested alone produce a hemolysis percentage of less than 50%, indicating that all the compounds produce a slight erythrocyte lysis. The results in Table V show that the AE shows a hemolysis percentage of 4.87% at a concentration of 10 $\mu\text{g/mL}$, which is lower than the hemolytic activity of CQ (30.29%), reflecting that the AE tested is not hemotoxic. The results of 0.1 and 1 $\mu\text{g/mL}$ are not expressed in Table V.

Table V.

Hemolysis percentage of the CQ and AE from the leaves of the *Plectranthus amboinicus*

Treatments	Hemolysis Percentage (%)	E.E.M
Control	100 \pm 0.01	
CQ (10 $\mu\text{g/mL}$)	30.29 \pm 0.23**	
AE (10 $\mu\text{g/mL}$)	4.87 \pm 0.14**	

** $p < 0.05$ compared with healthy control

Conclusions

When comparing the effects of chloroquine (CQ) and the aqueous extract (AE) from *Plectranthus amboinicus* leaves, the results suggest that AE, at the tested concentrations reduces the percentage of parasitemia in *Plasmodium berghei*-infected mice, though it does not achieve a complete cure, unlike the group treated with 25 mg/kg CQ. However, the prolonged survival of mice (10–16 days) indicates that AE could serve as an effective adjuvant to conventional antimalarial treatments. Additionally, AE appears to normalize CAT levels altered by malaria infection over

the 5-day treatment period. Moreover, AE tended to restore AST, ALT, and GGT levels toward those of the uninfected control group. Importantly, AE demonstrated no hepatotoxic or hemotoxic effects, as evidenced by liver transaminase levels and the absence of erythrocytic lysis. Finally, the experimental design of this study allowed for a risk-benefit assessment of both chloroquine and the aqueous extract of *Plectranthus amboinicus*.

Acknowledgment

The Ministry of Science and Technology 2024PGP117 provided financial support for this research.

References

- Acosta ME, Gamboa de Domínguez N. 2017. Potenciación del efecto antimalárico de combinaciones de cloroquina y mefloquina con acetaminofeno *in vivo* y niveles de glutatión total hepático. *Revista de la Facultad de Farmacia* 80 (1 y 2): 68-82.
- Aebi H. 1982. Catalase, in *Methods of Enzymatic Analysis* (vol III), 3 ed., Weinheim, Verlag Chemie pp. 273-86.
- Al-Jamal H, Idriss S, Roufayel R, Abi Khattar Z, Fajloun Z, Sabatier JM. 2024. Treating COVID-19 with Medicinal Plants: ¿Is It Even Conceivable? A Comprehensive Review. *Viruses* 16: 320.
- Alkandahri MY, Yuniarsih N, Berbudi A, Subarnas A. 2022. Antimalaria Activities of Several Active Compounds from Medicinal Plants. *Pharmacogn J* 14(1): 245-252.
- Arumugam G, Swamy MP, Sinniah UR. 2016. *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng: Botanical, Phytochemical, Pharmacological and Nutritional Significance. *Molecules* 21:369.
- Asiimwe S, Borg- Karlsson A-K, Azeem M, Mugisha KM, Namutebi A, Gakunga NJ. 2014. Chemical composition and Toxicological evaluation of the aqueous leaf extracts of *Plectranthus amboinicus* Lour. Spreng. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention* 3(2):19-27.

- Blacio S, Avecillas G, Maldonado J, Gadvay K, Porras M, León W, Calva J. 2025. Comparative Study of the Chemical Composition of the Essential Oil of *Plectranthus amboinicus* from Different Sectors of Southern Ecuador. *Horticulturae* 11:173.
- Chen Y-S, Yu H-M, Shie J-J, Cheng T-JR, Wu C-Y, Fang J-M, Wong C-H. 2014. Chemical constituents of *Plectranthus amboinicus* and the synthetic analogs possessing anti-inflammatory activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 22 (5):1766-1772.
- Dhameliya TM, Kathuria D, TM, Dave BP, Chaudhari AZ, Vekariya DD. 2023. A Quinquennial review on recent advancements and developments in search of Anti-malarial Agents. *Current Topics in Medicinal Chemistry* 9: 753-790.
- do Nascimento Martínez L, da Silva NB, da Silva MA, Fialho SN, Neves Costa JD. 2022. Antimalarial activities of plants with medicinal potential: a systematic review of the Literature. *Research Society and Development* 11(9): e58311932389.
- do Nascimento Martinez L, da Silva Rodrigues FL, da Silva NB, dos Santos EV, Neves Costa JD. 2020. Etnobotanical evaluation of the potential of the species of the families asteraceae and lamiaceae used as potencial medicine in the region of Porto Velho-Rondonia. *Interfaces Científicas Aracaju* 8 (2): 431-445.
- Ehrirhie EO, Ikegbune C, Okeke AI, Onwuzuligbo CC, Madubuogwu NU, Chukwudulue UM, Okonkwo OB. 2021. Antimalarial herbal drugs: a review of their interactions with conventional antimalarial drugs. *Clin Phytosci* 7:4.
- Gupta K, Gautre P, Biharee A, Singh Y, Patil UK, Kumar S, Thareja S. 2024. Exploring the potential of essential oil from *Plectranthus amboinicus* Leaves against Breast Cancer: *In vitro* and In silico Analysis. *Med Oncol* 41(4): 81.
- Hanh DTB, Ngu TN, Bao PHT, Nguyen NPD, Tron PV, Loan LTT, Lam DT, Nguyen PH, Khuyen PTH, Truong PCH, Tran MH, Giap D, To DC. 2023. Chemical composition and biological activities of essential oil from *Plectranthus amboinicus* collected in Dak Lak, Vietnam: *Tropical Journal of Natural Product Research* 7(11): 5203-5210.
- Krettli AU, Andrade-Neto VF, Brandão M, Ferrari VMS. 2001. The Search for new antimalarial drugs from plants used to treat fever and malaria or plants randomly selected: a Review. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 96 (8): 1033-1042.
- Kumar P, Sangam, Kumar N. 2020. *Plectranthus amboinicus*: A review on its pharmacological and pharmacognostical studies. *American Journal of Physiology, Biochemistry and Pharmacology* 10 (2): 5562.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193:265-275.
- Mehta R, López-Berestein G, Hopfer R, Mills K, Juliano RL. 1984. Liposomal amphotericin B is toxic to fungal cells but not to mammalian cells. *Biochim Biophys Acta* 70: 230-234.
- Mukherjee PK, Efferth TE, Das B, Kar A, Ghosh S, Singha S, Debnath P, Sharma N, Bhardwaj PK, Haldar PK. 2022. Role of medicinal plants in inhibiting SARS-CoV-2 and the management of post-COVID-19 complications. *Phytomedicine* 98:153930.
- Norazsida R, Pakeer O, Taher M. 2017. The antimalarial properties of essential oils of the leaves of Malaysian *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng in mice infected with *Plasmodium berghei*. *IJUM Medical Journal Malaysia* 16(1): 67-73.
- Orsini G, Tillet S. 2019. Taxonomic delimitation of the species of *Mentha* (Lamiaceae) found in herbaria and herbalists of the north and Andes of Venezuela. *Revista de la Facultad de Farmacia* 82(1y2):11-23.
- Orsini G. 2020. *Coleus* and *Plectranthus* (Lamiaceae) in Venezuela: an update in nomenclature and traditional uses. *Revista de la Facultad de Farmacia* 83 (1y2):123-137.
- Paluch Z, Birczova L, Pallag G, Marques EC, Vargova N, Kmoníčková E. 2020. The therapeutic effects of *Agrimonia eupatoria* L. *Physiological Research* 69 (Suppl 4): S555.
- Peters W, Portus JH, Robinson BL. 1975. The chemotherapy of rodent malaria, XXII: the value of drug-resistant strains of *P. berghei* in screening for blood schizontocidal activity. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology* 69(2): 155-171.
- Ramli N, Ahamed PO, Elhady HM, Taher M. 2014. Antimalarial activity of Malaysian *Plectranthus amboinicus* against *Plasmodium berghei*. *Pharmacognosy Res* 6(4): 280-4.
- Ribeiro GdJG, Rei Yan S, Palmisano G, Wrenger C. 2023. Plant extracts as a source of natural products with potential antimalarial effects: An Update from 2018 to 2022. *Pharmaceutics* 15:1638.
- Ruan TZ, Kao CL, Hsieh YL, Li HT, Chen CY. 2019. Chemical constituents of the leaves of *Plectranthus amboinicus*. *Chem Nat Comp* 55:124-126.
- Siqueira-Neto JL, Kathryn J, Wicht KJ, Chibale K, Jeremy N, Burrows JN, Fidock AA, Winzeler EA.

2023. Antimalarial drug discovery: progress and approaches. *Nat Rev Drug Discov.* 22(10): 807-826.
- Solanki SL, Modi CM, Patel HB, Patel UD. 2019. Phytochemical screening and thin-layer chromatography of six medicinal plants from the surroundings of Junagadh, Gujarat, India. *J Pharmacogn Phytochem* 8(4):3122-3126.
- Tajbakhsh E, Kwenti TE, Kheyri P, Nezaratizade S, Lindsay DS, Khamesipou F. 2021. Antiplasmodial, antimalarial activities and toxicity of African medicinal plants: a systematic review of literature. *Malar J* 20:349.
- Tietz NW, Berger S. 1976. *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*. ISBN: 9780721638652.
- Tse EG, Korsik M, Todd MH. 2019. The past, present and future of anti-malarial medicines. *Malar J* 18:93.
- Uzor PF, Prasasty VD, Agubata CO. 2020a. Natural Products as Source of Antimalarial Drugs. *Evid Based Complement Alternat Med.* Article ID 9385125.
- Uzor PF. 2020b. Alkaloids from Plants with Antimalarial Activity: A Review of Recent Studies. *Evid Based Complement Alternat Med* 12:2020:8749083.
- Valera Rivas R, Avila JL, Aubert L, Alonso-Amelot M, Usubillaga A. 2003. The essential oil of *Coleus amboinicus* Loureiro chemical composition and evaluation of insect anti-feedant effects. *CIENCIA* 11(2):113-118.
- Villena-Tejada M, Vera-Ferchau I, Cardona-Rivero A, Zamalloa-Cornejo R, Quispe Flórez M, Frisancho-Triveño Z, Abarca-Meléndez RC, Alvarez-Sucari SG, Mejia CR, Yañez JA. 2021. Use of medicinal plants for COVID-19 prevention and respiratory symptom treatment during the pandemic in Cusco, Peru: A cross-sectional survey. *PLoS One* 16(9): e0257165.
- Wen-Hui P, Xu, X-Y, Shi N, Tsang S-W, Zhang H-J. 2018. Antimalarial Activity of Plant Metabolites. 2018. *Int J Mol Sci* 19:1382.
- Wright CW. 2005. Plant-derived antimalarial agents: New leads and challenges. *Phytochemistry Reviews* 4:55-61.



Cloruro de potasio y su impacto fisiológico adverso sobre el modelo larvario del mosquito *Aedes aegypti* en el protocolo *Aa-Global-Tox*

Adverse physiological impact of potassium chloride on the larval model of the *Aedes aegypti* mosquito in the *Aa-Global-Tox* protocol

AURORA V. BARRIOS RUDAS^{*1}, MARCO A. ÁLVAREZ OCHOA^{**2}, ELIANA NAVARRO SCIOSCIA^{*3}, MARÍA I. RAMOS MORILLO^{**4}

Resumen

El KCl es un compuesto de múltiples aplicaciones y efectos variados. Se ha reportado que actúa como un eficaz fertilizante. Asimismo, cumple un papel importante en la homeostasis del ser humano. Sin embargo, la variabilidad en sus concentraciones séricas puede resultar tóxica. Esta "multibioactividad" del KCl ha sido poco explorada. En este trabajo se evaluó el impacto fisiológico adverso del KCl en el modelo larvario del mosquito *Aedes aegypti*, aplicando el protocolo *Aa-integral-Tox*. De dicho protocolo se obtuvo la CL_{50} a una $t=3h$ de 30,44mM, dentro de un IC95% de 28,82 a 43,55mM, lo que permitió evaluar la actividad motora y la actividad cardíaca contráctil a través del tiempo, así como la dinámica del equilibrio iónico, determinada en los sobrenadantes de los extractos de las poblaciones larvarias control y tratadas, respectivamente. Se determinó una disminución significativa en la trayectoria y la velocidad angular del 60,25% ($p<0,0001$), así como de la frecuencia de contracción cardíaca. Por otra parte, la variabilidad iónica en la población larvaria tratada presentó una disminución de la concentración de los iones Na^+ y Cl^- y un incremento del K^+ , respecto al control. El protocolo *Aa-integral-Tox*, permitió evaluar la letalidad y el impacto fisiológico adverso del KCl, a través de: la identificación de la actividad plaguicida del KCl contra la población larvaria del *Aedes aegypti*, mediante la reducción de la actividad motora y la actividad cardíaca contráctil, así como la variabilidad en las concentraciones de los metabolitos de la población larvaria sobreviviente a la concentración subletal.

Palabras clave: KCl, multibioactividad, larvas de *Aedes aegypti*, *Aa-integral-Tox*, actividad motora, actividad cardíaca contráctil, dinámica del equilibrio iónico, impacto fisiológico adverso

Abstract

KCl is a compound with multiple applications and varied effects. It has been reported to act as an effective fertilizer. It also plays an important role in human homeostasis. However, the variability in its serum concentrations can be toxic. The multibioactivity of KCl has been little explored. This work evaluated the adverse physiological impact of KCl on the larval model of the *Aedes aegypti* mosquito, applying the *Aa-integral-Tox* protocol. From this protocol, the LC_{50} at $t=3h$ of 30.44 mM was obtained, within a 95% CI of 28.82 to 43.55 mM, which allowed the evaluation of motor activity and cardiac contractile activity over time, as well as the dynamics of ionic equilibrium, determined in the supernatants of the extracts of the control and treated larval populations, respectively. A significant decrease in trajectory and angular velocity of 60.25% ($p < 0.0001$) was observed, along with a reduction in the frequency of cardiac contractions. On the other hand, the ionic variability in the treated larval population showed a decrease in the concentration of Na^+ and Cl^- ions and an increase in K^+ ions compared to the control. The *Aa-integral-Tox* protocol allowed to evaluate the lethality and the adverse physiological impact of KCl, through the identification of the pesticidal activity of KCl against the larval population of *Aedes aegypti*, by reducing motor activity and cardiac contractile activity, as well as the variability in the concentrations of the metabolites of the larval population surviving at the sublethal concentration.

Keywords: KCl, multibioactivity, *Aedes aegypti* larvae, *Aa-integral-Tox*, motor activity, cardiac contractile activity, ionic balance dynamics, adverse physiological impact

*Sección de Microscopia, Instituto Anatómico José Izquierdo, Facultad de Medicina **Laboratorio de Inmunoquímica y Ultraestructura Toxinológica. Instituto Anatómico José Izquierdo, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela. República Bolivariana de Venezuela. Caracas 1040, Distrito Capital. Correspondencia: alvarezmenator@gmail.com

Orcid: [10000-0002-4712-0795](https://orcid.org/0000-0002-4712-0795)

[20000-0002-1781-4532](https://orcid.org/0000-0002-1781-4532)

[30000-0002-4049-061X](https://orcid.org/0000-0002-4049-061X)

[40000-0003-3770-2818](https://orcid.org/0000-0003-3770-2818)

DOI: [10.54305/RFFUCV.2025.88.1-2.6](https://doi.org/10.54305/RFFUCV.2025.88.1-2.6)

Disponible: http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_ff

Recepción: 27/02/2025

Aprobación: 7/04/2025

Introducción

El cloruro de potasio, KCl, es un compuesto de gran importancia en la medicina que se ha empleado para tratar o mantener la presión arterial en niveles normales o estables, debido a su capacidad para preservar la función mitocondrial, ejercer un efecto antiapoptótico sobre las lesiones miocárdicas y servir de cardioprotector (Andersen y col., 1985; Rodan, 2017; Iqbal y col., 2019; Madadi y col., 2022). Asimismo, tiene un papel modulador en una variedad de procesos fisiológicos y celulares, tales como la transmisión del impulso nervioso, contracción del músculo liso y esquelético, secreción gástrica, función renal, síntesis de proteínas y metabolismo de carbohidratos, por lo que, el mantenimiento del balance de este compuesto dentro del organismo es de vital importancia para la homeostasis del mismo (Tejada Cifuentes, 2008). Una concentración sérica de KCl, muy baja o muy elevada tiene efectos dañinos o tóxicos sobre la función del corazón y de otros órganos, es debido a esto, que su administración requiere de conocimientos a fin de evitar complicaciones que puedan deteriorar la salud del individuo o incluso causar su muerte (Rodríguez, 2021). Otra de las aplicaciones del cloruro de potasio, ha sido en la producción alimentaria como fertilizante en cultivos hortícolas, específicamente en sistemas hidropónicos, debido a su alta solubilidad, bajo costo y alta concentración de potasio (Ayala y col., 2019). Así mismo, se ha reportado que actúa como agente plaguicida. Embarcaciones y/o equipos marinos expuestos a biomasas acuáticas como el mejillón, utilizan el KCl para descontaminar las superficies expuestas a este organismo, debido a la eficacia y rapidez con la cual es capaz de inducir su muerte (Davis y col., 2018; Wang

y col., 2018b). Esta doble acción del KCl, define una "multibioactividad" que hasta la fecha ha sido poco explorada. Sin embargo, digna de ser valorada debido al impacto fisiológico adverso que pudiera estar generando sobre los organismos vivos, bien sea, causando la muerte poblacional de microorganismos invasores, en el caso de su acción plaguicida, o bien, induciendo trastornos neurocardiotóxicos, como ha sido sugerido por otros autores (Wang y col., 2018a; Reinecker y col., 2020). En tal sentido, incrementar el número de bioensayos *in vivo* que analicen la letalidad o actividad plaguicida del KCl, conjuntamente con la evaluación de la expresión de cualquier impacto fisiológico adverso durante su aplicación, es de gran importancia. Cabe destacar que, todas sus aplicaciones han sido reportadas como dependientes de la concentración y el tiempo de exposición, así, altas y/o bajas concentraciones, conjuntamente con tiempos de exposición, que van desde los segundos hasta horas y días de tratamiento, han sido descritos (Fujimura y Usuki, 2017). Es por ello, que en el presente trabajo nos planteamos evaluar el impacto fisiológico adverso del KCl haciendo uso del modelo larvario del mosquito *Aedes aegypti*, en un protocolo definido en nuestro laboratorio como el *Aa-integral-Tox* (Álvarez y col., 2022). El mencionado protocolo, ha estado inspirado en el modelo larvario del pez cebra (Cornet y col., 2017), con el cual hemos generados algunos aportes de reconocida significancia (Zanotty y col., 2019; Álvarez y col., 2021). Es un protocolo innovador que integra, en un mismo animal, lo letal con la respuesta neurocardiotóxica, cumpliendo así los principios básicos de las 3R: Reducción, Reemplazo y Refinamiento de los modelos animales de experimentación (Guerra y col., 2016). Es un modelo experimental no

convencional que proporciona respuestas funcionales medibles y cuantificables, además de ser fácilmente accesibles y de muy reducido costo, en comparación con los modelos convencionales de experimentación. Con el uso del modelo larvario del mosquito de *Aedes aegypti*, hemos podido identificar, medir y cuantificar la toxicidad aguda y los efectos subletales de algunos compuestos de interés en nuestro laboratorio (Hernández y Álvarez, 2020; Álvarez y col., 2021a; Álvarez y col., 2021b., Barrios y col., 2022). En tal sentido, este modelo alternativo no convencional podría garantizar los altos índices de productividad para estimar la eficiencia de los bioensayos de toxicidad, como proponen algunos autores (Hornberg y col., 2014; Blomme y col., 2016) en este caso con el uso del KCl.

Materiales y Métodos

Nuestro protocolo, *Aa-integral-Tox*, ha sido diseñado como una herramienta metodológica a partir de la cual es posible determinar, en un mismo modelo animal, los bioensayos de toxicidad aguda conjuntamente con la identificación de las señales de daño subyacentes a su aplicación (Álvarez y col., 2022). Para los bioensayos de toxicidad aguda, larvas de *Aedes aegypti* en estadio 4 (L4), fueron incubadas en placas de plástico de 24 pozos con una concentración creciente de KCl de 0, 20, 40, 60, 80 y 100 mM (Guo y col., 2022), en un volumen final de 1000 μ L, a una razón de 4 larvas/pozo/concentración, a temperatura ambiente y durante 1, 2 y 3 horas, respectivamente. Cada una de las diluciones se prepararon en agua desionizada y se utilizó como control positivo, el cloruro de sodio, NaCl, de toxicidad y referencia conocida.

Una vez transcurrido los tiempos de exposición, se procedió a registrar la mortalidad y los resultados obtenidos fueron sometidos al análisis de regresión no lineal empleando el programa estadístico GraphPad Prism 8.0.2, para determinar la Concentración Letal cincuenta (CL₅₀) y sus intervalos de confianza ($\alpha=0,05$). Para la identificación y cuantificación de los efectos subletales, se evaluaron los cambios funcionales; particularmente de la Actividad Motora (AM) y la Actividad Cardíaca Contráctil (ACC), así como la Dinámica del Equilibrio Iónico, determinada en los sobrenadantes de los extractos de las poblaciones larvarias control y tratadas, respectivamente. Para ello, se siguieron los protocolos descritos en trabajos previos (Álvarez y col., 2021a; Álvarez y col., 2023), y se analizaron tanto las imágenes como los videos obtenidos mediante el programa de procesamiento ImageJ Fiji10 64-bit Java 8. y el software libre Tracker Video Analysis Versión 6. Seguidamente, los resultados fueron registrados gráficamente y los valores obtenidos sometidos a su análisis estadístico. Los valores medidos fueron tiempo de exposición (t), velocidad angular (ω) y aceleración angular (α), con lo cual fue posible establecer la relación Sensibilidad/Especificidad y el Índice de Variabilidad de la AM (IvAM). Adicionalmente, se evaluó la frecuencia promedio de contracción (fc) y el intervalo de picos de contracción (c-c) permitiendo definir la Variabilidad Total de la ACC (VtACC) y el Índice de Variabilidad de la ACC (IvACC). Por su parte, para analizar el comportamiento iónico en la población larvaria intoxicada pero sobreviviente a la acción del KCl, se procedió a realizar la determinación de electrolitos, tales como Na⁺, K⁺, Cl⁻ y Ca⁺⁺, así como el pH, a través del analizador de electrolitos ST-200. Pro⁺/PLUS. Para ello, se utilizó un pool de 40

larvas, controles y tratadas, las cuales fueron lavadas en agua desionizada para remover los restos de KCl, maceradas de forma mecánica y centrifugadas a 2.000 rpm durante 15 minutos. Seguidamente, el sobrenadante obtenido fue filtrado por una Millipore de $0,45\ \mu\text{m}$ (SA 67120) y analizado. Se realizó una curva de calibración patrón para los iones, con la cual se contrastó el patrón del sobrenadante control y tratado obtenido. Todos los análisis fueron fortalecidos con los estadísticos mediante el ANOVA de una vía, acompañado con la prueba de complementariedad de Brown-Forsythe y test de Bostlett's.

Resultados

La letalidad del KCl fue registrada a la primera hora de observación, siendo representada en una curva Mortalidad larvaria - Concentración de KCl a la hora de tratamiento; en esta, se puede apreciar la relación que existe entre la concentración de KCl con el porcentaje acumulativo de larvas que resultaron muertas debido a la exposición, lográndose evidenciar que a mayor concentración, mayor es la mortalidad (Figura 1a).

Al realizar la transformación logarítmica de la relación Mortalidad larvaria - Concentración de KCl, se obtuvo una CL_{50} a una $t=3\text{h}$ de $30,44\text{mM}$, dentro de un IC95% de $28,82$ a $43,55\text{mM}$ (Figura 1b). Cabe destacar, que la mortalidad larvaria del 100% con el NaCl, se alcanzó a un $t=3\text{h}$.

Por su parte, en el rango de Concentración Subletal, CL_{50} , de KCl, se obtuvo que el perfil de desplazamiento larvario, representado por trazos de líneas azarosas y continuas en el control (Figura 2a), presentó una

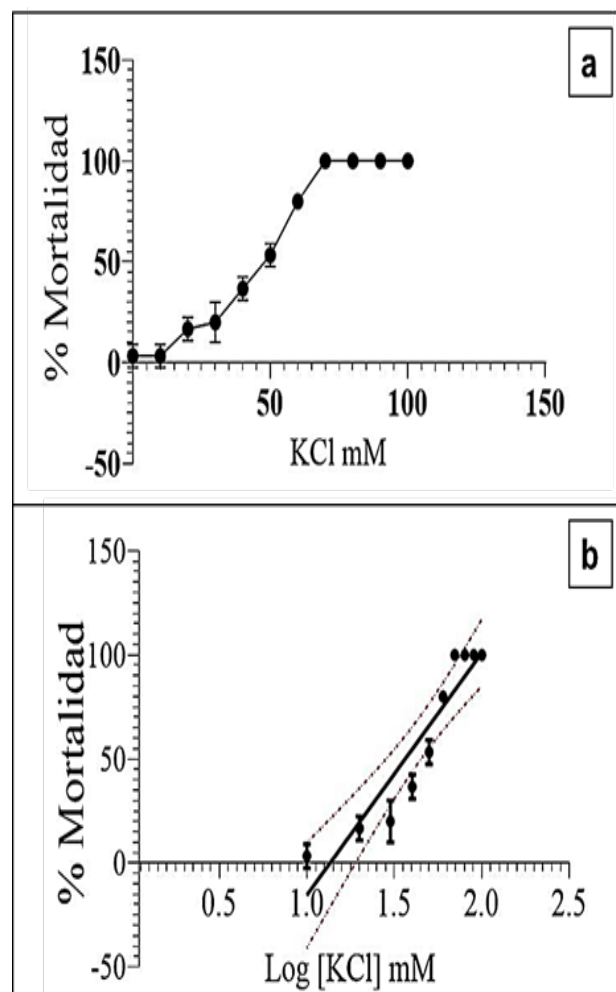


Figura 1. a) Curva Mortalidad larvaria - Concentración de KCl a la hora de tratamiento; b) Transformada logarítmica de la relación Mortalidad larvaria - Concentración de KCl

reducción a medida que fue transcurriendo el tiempo de exposición (Figura 2b), hasta alcanzar una especie de letargo con un mínimo de desplazamiento en aquellos casos donde el tiempo de tratamiento era más prolongado (Figura 2c). Dichos cambios se traducen en una evidente disminución de los picos de angulación que describen el desplazamiento y los movimientos zigzagueantes de la población larvaria control y tratada (Figuras 2a', 2b' y 2c'), así como, en una reducción de la velocidad angular (Figura 3a), expresada en un descenso significativo del coeficiente de varianza de 1.526% a 614% , es decir,

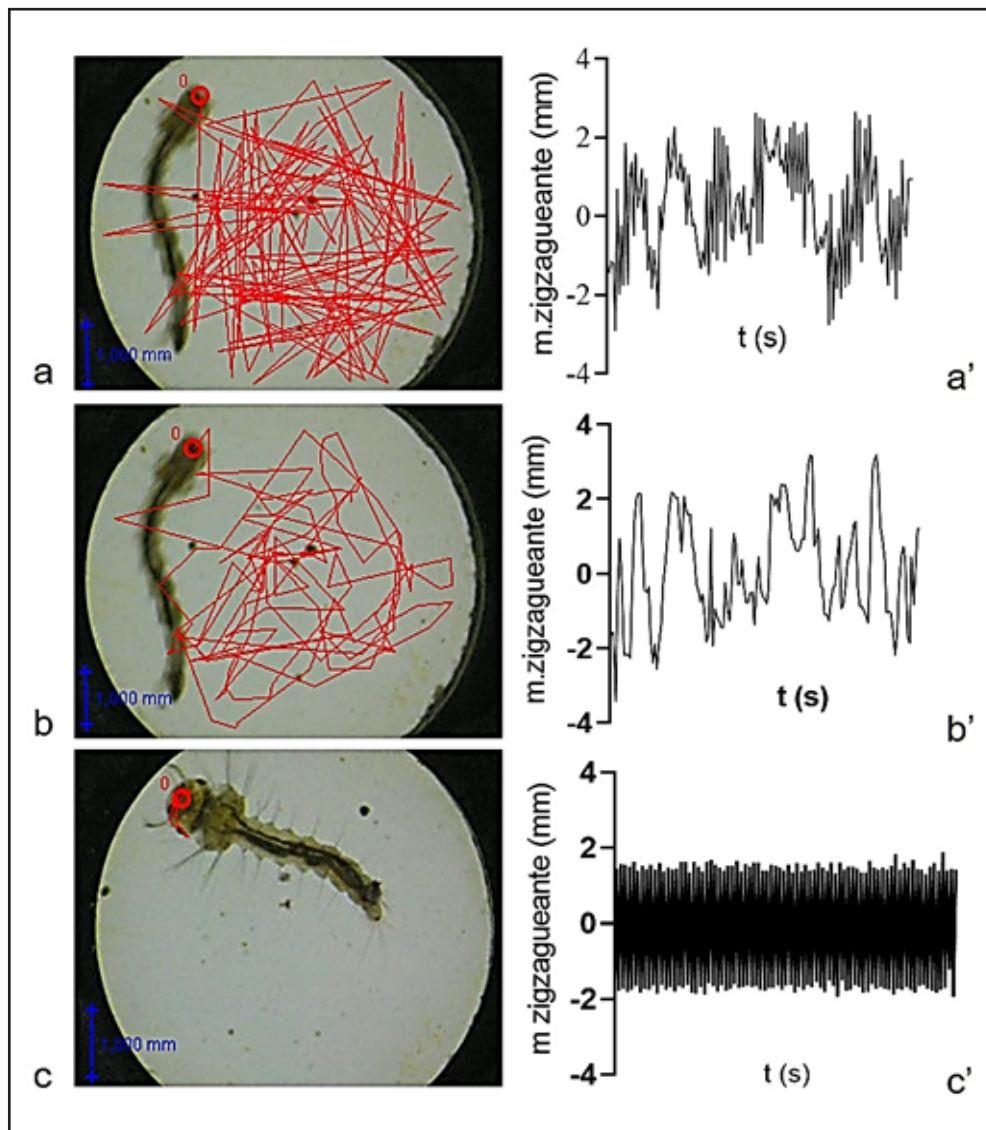


Figura 2. a, b, c) Trayectoria larvaria en tiempos de exposición ascendentes. a', b', c') Desplazamiento larvario en función del tiempo

en una pérdida de la velocidad angular de aproximadamente el 60,25% ($p < 0,0001$), que se evidenció al alcanzar la parálisis total del cuerpo en aquellas larvas expuestas a la CL_{50} luego de un $t=1h$. La relación Sensibilidad/Especificidad permitió definir un IvAM de $62,18 \pm 3,7\%$, dentro de un IC95% entre 54,80 a 69,56 (Figura 3b).

Adicionalmente, en este rango de CL_{50} del KCl, el perfil de la ACC, representado por un Tacograma y medido en términos de la frecuencia de los picos

de contracción sistólica y diastólica de las poblaciones larvarias sobrevivientes al tratamiento, presentó una evidente disminución en sus picos en función del tiempo (Figura 4a), lo que se traduce en una reducción estadísticamente significativa de la frecuencia de contracción cardiaca, verificada con un ANOVA. F de 76,80 $p < 0,0001$, $r^2 = 0,1044$ y certificada con un test de Brown Forsythe $***p = 0,0009 < 0,05$, así como, con el test de Bostlett's 22,77, $***p = 0,0001 < 0,05$ (Figura 4b). La relación

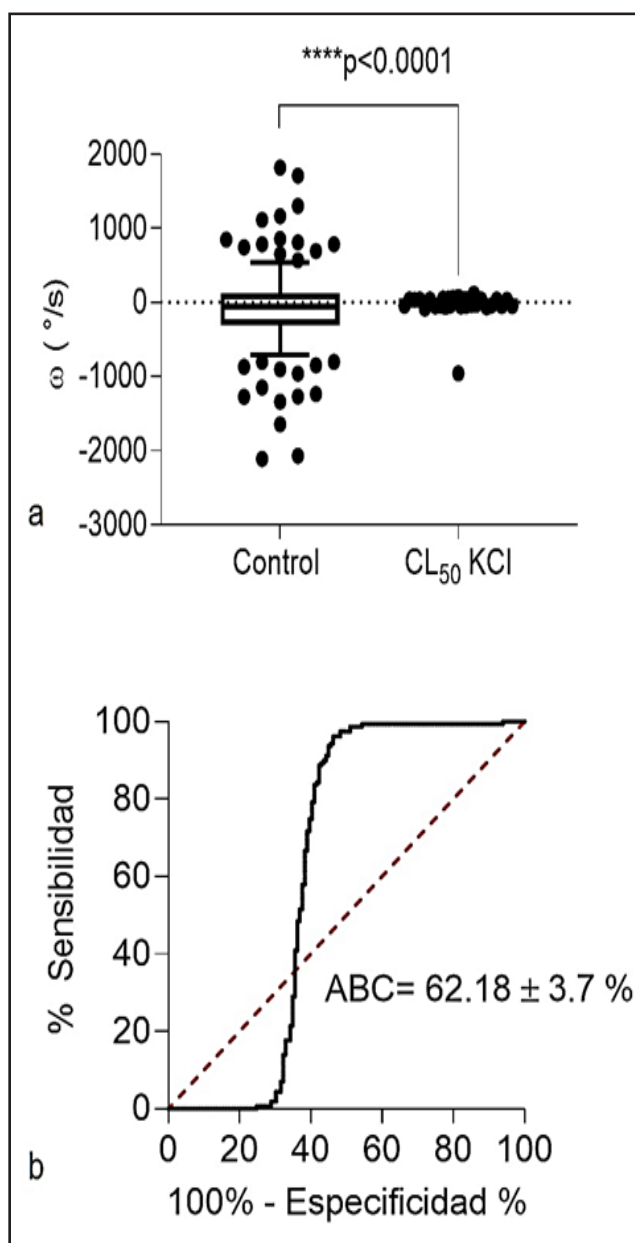


Figura 3. a) Varianza de la velocidad angular entre los grupos control y tratados b) Relación sensibilidad/especificidad para definir el IvAM

Sensibilidad/Especificidad permitió definir un IvACC de $55,23 \pm 1,8\%$ dentro de un IC95% de 51,78 a 58,68 $p=0.003 < 0,05$ (Figura 4c).

Al evaluar la variabilidad iónica en la población larvaria tratada con el rango de CL_{50} del KCl (Figura 5), se pudo determinar que ocurre una reducción

en la concentración de iones presentes al comparar el patrón de la curva de calibración de los iones evaluados (Figura 5a) con el patrón obtenido para las larvas control (Figura 5b) y tratadas (Figura 5c), encontrándose una disminución de la concentración de los iones Na^+ y Cl^- así como, un incremento del K^+ , en la población de larvas tratadas respecto al control. Cabe destacar que al comparar el pH del sobrenadante control con el pH del sobrenadante del extracto de larvas tratadas con la CL_{50} del KCl, se encontró una caída del mismo de 6,043 a 5,691, estimando así descenso de aproximadamente 0,352 puntos de pH.

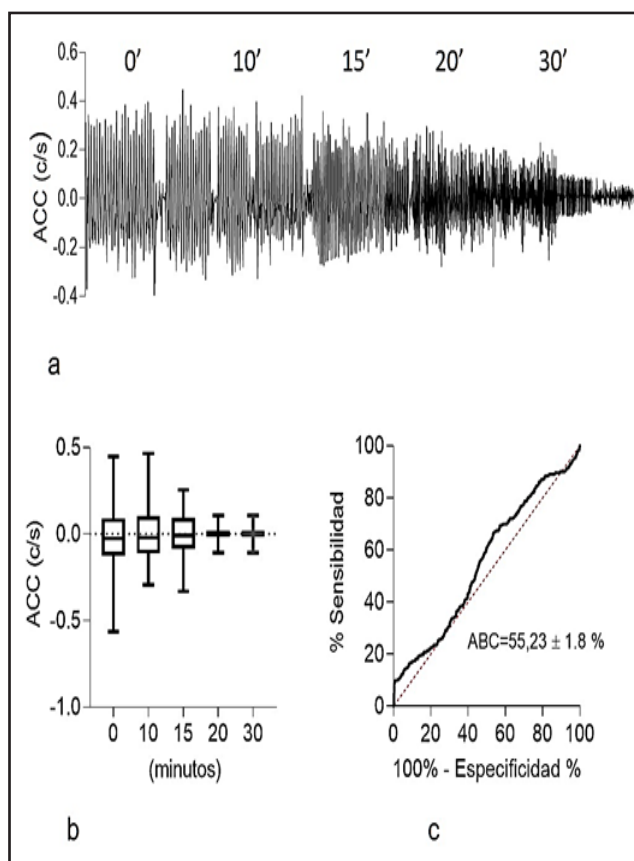


Figura 4. a) Tacograma de frecuencia cardiaca en función del tiempo de larvas tratadas. b) Varianza de la actividad cardiaca contráctil en función del tiempo c) Relación sensibilidad/especificidad para definir el IvACC

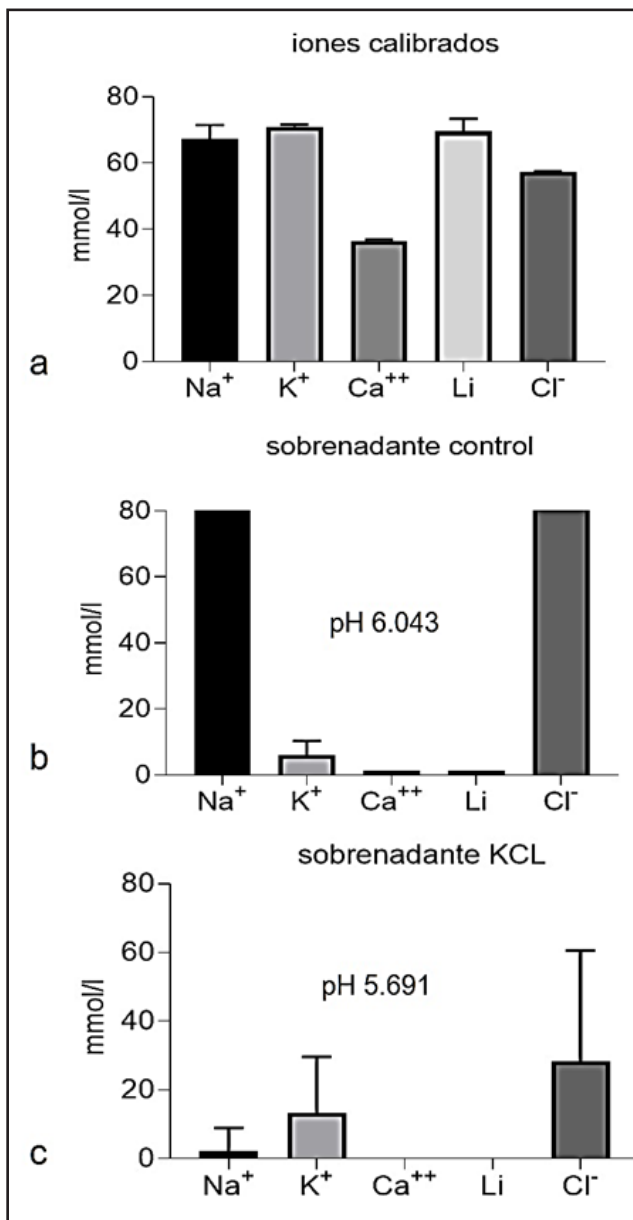


Figura 5. Dinámica de equilibrio iónico. a) Patrón de calibración de los iones evaluados. b) Patrón de los iones presentes en larvas control. c) Patrón de los iones presentes en larvas tratadas

Discusión

El protocolo del modelo *in vivo* para larvas de *Aedes aegypti*, *Aa-integral-Tox*, nos permitió evaluar la letalidad del KCl, conjuntamente con la expresión de su impacto fisiológico adverso, a través de: la identificación de la actividad plaguicida

del KCl contra la población larvaria del *Aedes aegypti* mediante la cuantificación de la reducción de la AM y de la ACC de la población larvaria sobreviviente a la concentración subletal. En cuanto a la actividad plaguicida, nuestros resultados demostraron que, efectivamente, las larvas del mosquito *Aedes aegypti* son sensibles a la acción tóxica del KCl, una sensibilidad dependiente de la concentración y del tiempo de exposición. Particularmente, se pudo apreciar que la mortalidad larvaria de 100% alcanzado con el KCl fue obtenida en un tiempo dos veces menor que el requerido para el NaCl; resultando, mucho más efectivo respecto al tóxico de referencia. Nuestros resultados concuerdan con los datos publicados por otros autores (Davis y col., 2015), quienes han comparado la actividad plaguicida de ambos compuestos empleando larvas y adultos de algunas especies de moluscos, encontrándose que el 100% de mortalidad de KCl se obtiene luego de 6h de exposición a diferencia del NaCl el cual tiene efectos mortales trascurrido 24h de tratamiento. De manera que nos encontramos ante una importante característica del KCl, como es su actividad plaguicida, que ha de ser tomada en consideración al momento de tomar decisiones sobre su consumo, ya que podría comprometer numerosos procesos celulares en los organismos. En cuanto al impacto fisiológico adverso, particularmente la reducción de la AM y de la ACC, cabe destacar que en estudios *in vitro*, se demostró que mediante el uso de elevadas concentraciones de KCl se logra la despolarización de la membrana celular de las células neuronales en cultivo. Esta estrategia, ha permitido visualizar los mecanismos de entrada de los iones Ca⁺ a través de los canales de calcio sensibles al voltaje de tipo L, así como, algunas

rutas de señalización que regulan los eventos transcripcionales y otras respuestas intracelulares vinculadas con los procesos de despolarización (Reinecker y col., 2020). De igual manera, los efectos en dichos modelos también han sido descritos como dependientes de la concentración, particularmente concentraciones variables entre 3mM y 150mM de KCl, así como del tiempo de exposición, particularmente breves, en segundos, o después de días de tratamientos. Al respecto cabe destacar que en la mayoría de los sistemas *in vivo* o *in vitro*, distintos rangos de concentración de KCl generan una variabilidad de gradientes de concentración de los iones K^+ a través de la membrana celular que son determinantes de las características del potencial de membrana de las células; pequeñas desviaciones en el potasio sérico normal pueden conducir a una disfunción muscular. La misma, conducente, probablemente a una insuficiencia respiratoria y a un paro cardíaco, debido, en parte, al manejo interrelacionado del equilibrio Na^+/K^+ (Saxena, 1989). Por otra parte, también cabe destacar que, en años recientes, con técnicas inmunohistoquímicas, ha sido detectado el intercambiador Na^+/K^+ -ATPasa a nivel de la membrana luminal del intestino medio anterior de larvas de mosquito *Aedes aegypti*. Esto, ha sido vinculado con la participación de esta bomba Na^+/K^+ -ATPasa en un proceso de fuerte alcalinización a nivel de las larvas y en preparaciones de intestino medio aislados y perfundido (Onken y col., 2009). Si son estos argumentos los que pudieran estar rigiendo el impacto fisiológico adverso ejercido por el KCl en nuestro modelo larvario de *Aedes aegypti*, estaría por confirmarse. Sin embargo, el análisis realizado en nuestra experimentación sobre la movilización de los electrolitos, evento

considerado como posible impacto de una elevada concentración de KCl, en este caso extracorpórea, nos estaría indicado que hubo modificación en el intercambio Na^+/K^+ , lo cual ha permitido inferir sobre la importancia de este intercambio iónico en la fisiología de la larva *Aedes aegypti*. Si bien no contamos con resultados que permitan corroborar la variabilidad de los gradientes de K^+ o la presencia de la bomba Na^+/K^+ -ATPasa dependiente, la variabilidad en movimiento iónico, así como la alcalinización puesta en evidencia a través del cambio de pH registrado, nos permiten sugerir la posibilidad de un grave impacto sobre desviaciones en el K^+ que pudieran estar comprometido los procesos fisiológicos de AM y ACC, como fue demostrado. Por último, se concluye que el modelo larvario del mosquito *Aedes aegypti* resulta eficiente para la realización de bioensayos *in vivo* que analicen la letalidad o actividad plaguicida del KCl, conjuntamente con la evaluación de la expresión de cualquier impacto fisiológico adverso durante su aplicación. Futura experimentación habrá que ser realizada para analizar los posibles mecanismos celulares y moleculares vinculados con la toxicidad de un compuesto de multibioactividad como el KCl.

Conflicto de interés

Los autores declaran que no existe conflicto de interés.

Referencias Bibliográficas

Álvarez Ochoa MA, Barrios Rudas ADV, Navarro E. 2022. *Aa-Integral-Tox*: un protocolo innovador para evaluar la neuro-cardiotoxicidad haciendo uso de larvas del mosquito *Aedes aegypti*: un modelo animal no convencional. Revista Facultad de Farmacia 85(1y2): 128-138.

- Álvarez Ochoa MA, Barrios Rudas AV, Navarro Scioscia E. 2023. Modelo *in vivo* de lesiones inducidas por la radiación no ionizante de microondas sobre larvas de mosquito *Aedes aegypti*. Revista de la Facultad de Farmacia 86(1y2): 24-33.
- Álvarez M, Hernández C, Morales E, Hernández F, Velásquez V, Zuleta G. 2021a. Respuestas morfofuncionales de larvas de mosquito *Aedes aegypti* a la Tetrametrina-Real-ZZ®. Revista de Toxicología 38(1): 34-38.
- Álvarez M, Zanotty Y, Perdomo L, Rodríguez A. 2021b. Development Of An Innovative Zebrafish Danio Rerio Smear/Imprint *in vitro* assay for rapid preliminary inspection of the snake venom toxicological effects. Journal of Experimental and Applied Animal Sciences 3(3): 151-163.
- Andersen B, Snorrason SP, Ragnarsson J, Hardarson T. 1985. Hydrochlorothiazide and potassium chloride in comparison with hydrochlorothiazide and amiloride in the treatment of mild hypertension. Acta Medica Scandinavica 218(5): 449-454.
- Ayala Apaza BV, Huanca Chui C, Fernández Chávez CM. 2019. Evaluación del cultivo de la lechuga (*Lactuca sativa*) en sistema hidropónico bajo dos niveles de cloruro de potasio. Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales 6(2):66-71.
- Barrios A. 2020. Daño morfo funcional retinal ocasionado por la toxicidad de la glucosa en el modelo larvario de pez cebra. Revista de la Facultad Medicina 43: 27-28.
- Blomme EAG, Will Y. 2016. Toxicology Strategies for Drug Discovery: Present and Future. Chem Res Toxicol 29:473-504.
- Christine L. Densmore, Luke R Iwanowicz, Anne P. Henderson, Vicki S. Blazer, Baileigh M. Reed-Grimmett, Lakyn R. Sanders. 2018. An Evaluation of the Toxicity of Potassium Chloride, Active Compound in the Molluscicide Potash, on Salmonid Fish and Their Forage Base. U.S. Geological Survey Open-File Report 2018-1080, 33 p.
- Cornet C, Calzolari S, Miñana-Prieto R, Dyballa S, van Doornmalen E, Rutjes H, Savy T, D'Amico D, Terriente J. 2017. ZeGlobalTox: an innovative approach to address organ drug toxicity using Zebrafish. Int J Mol Sci 18(4):864.
- Davis EA, Wong WH, Harman WN. 2015. Comparison of three sodium chloride chemical treatments for adult zebra mussel decontamination. Journal of Shellfish Research 34:1029-1036.
- Davis EA, Wong WH, Harman WN. 2018. Toxicity of Potassium Chloride Compared to Sodium Chloride for Zebra Mussel Decontamination. J Aquat Anim Health 30(1): 3-12.
- Fujimura M, Usuki F. 2017. Site-specific neural hyperactivity via the activation of MAPK and PKA/CREB pathways triggers neuronal degeneration in methylmercury-intoxicated mice. Toxicology Letters 271:66-73.
- Guerra J, Cabezas P, Yebra E, Gutiérrez C, Cedrón V, Otero M, Sánchez L. 2016. "A Zebra in the Water": Inspiring Science in Spain. Zebrafish 13(4): 241- 247.
- Guo X, Zhou S, Wu J, Zhang X, Wang Y, Li Z., Chen XG, Zhou X. 2022. An Experimental Evaluation of Toxicity Effects of Sodium Chloride on Oviposition, Hatching and Larval Development of *Aedes albopictus*. Pathogens (Basel, Switzerland) 11(2):262.
- Hernández C, Álvarez M. 2020. Un Análisis de Imagen por Segmentación de la Histopatología Producida por la Acrilamida en el Pez Cebra Adulto Danio rerio. Rev Toxicol 37(1): 41-43.
- Hornberg JJ, Laursen M, Brenden N, Persson M, Thougard AV, Toft DB, Mow T. 2014. Exploratory toxicology as an integrated part of drug discovery. Part I: Why and how. Drug Discov Today 19:1131-1136.
- Iqbal S, Klammer N, Ekmekcioglu C. 2019. The effect of electrolytes on blood pressure: A brief summary of meta-analyses. Nutrients 11(6):1362.
- Madadi F, Aghajani M, Dabbagh A, Fani K, Sehati F, Imani A. 2022. Effects of acute potassium chloride administration on ventricular dysrhythmias after myocardial infarction in a rat model of ischemia/reperfusion. The Journal of Tehran University Heart Center 17(1):15.
- Meneely GR, Ball CO, Youmans JB. 1957. Chronic sodium chloride toxicity: the protective effect of added potassium chloride. Annals of Internal Medicine 47(2):263-273.
- Onken H, Patel M, Javoroncov M, Izeirovski S, Moffett SB, Moffett DF. 2009. Strong alkalinization in the anterior midgut of larval yellow fever mosquitoes (*Aedes aegypti*): involvement of luminal Na⁺/K⁺-ATPase. Journal of experimental zoology. Part A, Ecological Genetics and Physiology 311(3):155-161.
- Rienecker KD, Poston RG, Saha RN. 2020. Merits and limitations of studying neuronal depolarization-dependent processes using elevated external potassium. ASN Neuro 12:1759091420974807.

- Rodan A. 2017. Potassium: friend or foe? *Pediatr Nephrol* 32(7):1109-1121.
- Rodriguez A. 2021. Suicidio con cloruro de potasio: Reporte de un caso. *Med Leg Costa Rica* 38(2): 30.37.
- Rodriguez CJ, Bibbins-Domingo K, Jin Z, Daviglus ML, Goff DC Jr, Jacobs DR Jr. 2011. Association of sodium and potassium intake with left ventricular mass: coronary artery risk development in young adults. *Hypertension* 58(3):410-416.
- Saxena K. 1989. Clinical features and management of poisoning due to potassium chloride. *Med Toxicol Adverse Drug Exp* 4(6):429-43.
- Tejada Cifuentes F. Alteraciones del equilibrio Potasio: Hipopotasemia. 2008. *Revista Clínica de Medicina de Familia* 2(3): 129-133.
- Wang N, Ivey CD, Dorman RA, Ingersoll CG, Steevens J, Hammer EJ, Bauer CR, Mount D. R. 2018a. Acute toxicity of sodium chloride and potassium chloride to a unionid mussel (*Lampsilis siliquoidea*) in water exposures. *Enviro Toxicol Chem* 37(12): 3041-3049.
- Wang N, Kunz JL, Dorman RA, Ingersoll CG, Steevens JA, Hammer EJ, Bauer CR. 2018b. Evaluation of chronic toxicity of sodium chloride or potassium chloride to a unionid mussel (*Lampsilis siliquoidea*) in water exposures using standard and refined toxicity testing methods. *Environ Toxicol Chem* 37(12):3050-3062.
- Zanotty Y, Álvarez M, Perdomo L, Sánchez EE, Giron ME, Jimenez JC, Rodríguez-Acosta A. 2019. Mutacytin-1, a new C-Type lectin-like protein from the Venezuelan Cuaima (*Lachesis muta muta* Linnaeus, 1766) (Serpentes: Viperidae) snake venom inducing cardiotoxicity in developing zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Zebrafish* 16(4):379-387.



Perfil de uso de anticoagulantes en pacientes hospitalizados en un centro de salud privado en la ciudad de Caracas, Venezuela

Anticoagulant use profile in hospitalized patients at a private healthcare center in Caracas, Venezuela

MARÍA E. PORTILLO R^{*1}, LESBIA MURO ^{**2}

Resumen

Los medicamentos anticoagulantes son una clase de fármacos de uso común en la práctica médica, especialmente en pacientes hospitalizados. Su función principal es prevenir la formación de coágulos sanguíneos, lo que reduce el riesgo de eventos tromboembólicos. Ahora bien, para el uso racional de estos medicamentos deben ser considerados diversos factores, como el tipo de enfermedad, el riesgo de sangrado, las comorbilidades presentes y las interacciones medicamentosas. En esta investigación, se presenta un estudio de utilización de medicamentos anticoagulantes del tipo prescripción-indicación en pacientes hospitalizados, cuyo objetivo es evaluar la apropiación de la prescripción de anticoagulantes en este contexto. El estudio se basó en el análisis de datos obtenidos de historias clínicas de pacientes hospitalizados en un período de tiempo que va de marzo a abril de 2024. Del análisis de los datos se obtuvo que el uso de anticoagulantes en este centro hospitalario es predominantemente profiláctico, pero igualmente se indica de forma terapéutica. El fármaco de elección es la Enoxaparina, aunque también se registró prescripción para Rivaroxabán y Warfarina. Asimismo, se registraron interacciones farmacológicas de los anticoagulantes con otros medicamentos que se administraron simultáneamente, las cuales requieren un monitoreo constante de la relación riesgo/beneficio para el paciente. La información proporcionada por este estudio es valiosa para garantizar el uso racional de medicamentos.

Palabras clave: Anticoagulantes, Prescripción, Indicación, Utilización de medicamentos, Pacientes hospitalizados

Abstract

Anticoagulant drugs are a class of drugs commonly used in medical practice, especially in hospitalized patients. Their main function is to prevent the formation of blood clots, which reduces the risk of thromboembolic events. However, for the rational use of these drugs, several factors should be considered, such as the type of disease, the risk of bleeding, the comorbidities present, and drug-drug interactions. In this research, a study of the use of anticoagulant drugs of the prescription-indication type in hospitalized patients is presented, the objective of which is to evaluate the appropriateness of anticoagulant prescription in this context. The study was based on the analysis of data obtained from medical records of hospitalized patients in the time period from March to April 2024. The data analysis showed that the use of anticoagulants in this hospital center is predominantly prophylactic but is also indicated therapeutically. The drug of choice is Enoxaparin, although prescriptions for Rivaroxaban and Warfarin were also recorded. Likewise, pharmacological interactions of anticoagulants with other drugs that were administered simultaneously were recorded, which requires constant monitoring of the risk/benefit ratio for the patient.

Keywords: Anticoagulants, Prescription, Indication, Medication utilization, Hospitalized patients

*Mención Sanitario-Asistencial, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela **Coordinadora de la Mención Sanitario-Asistencial, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela. Correspondencia: mariaemmaportillor@gmail.com

Introducción

Los estudios de utilización de medicamentos permiten observar a detalle cómo se usan los medicamentos en una población específica. Estos estudios, de tipo epidemiológico y descriptivo, analizan desde la oferta y disponibilidad de los medicamentos hasta su prescripción, dispensación, consumo y cumplimiento terapéutico. Su objetivo principal es obtener una visión completa del uso de medicamentos para identificar patrones de uso, perfiles y otras características relevantes para promover el uso racional de los mismos (Altimiras y col., 2002).

La terapia anticoagulante se define como una medida farmacológica orientada principalmente a evitar el crecimiento de un trombo previamente formado, en enfermedades como la trombosis venosa profunda (TVP), tromboembolismo pulmonar (TEP), accidentes cerebrovasculares (ACV) secundario a fibrilación auricular (FA), síndrome coronario agudo (SCA) e infarto agudo de miocardio (IAM) (Aucancela y col., 2024; Vallejos y col., 2020; Molina y col., 2020). Tanto la TVP como el TEP pueden ocurrir de forma espontánea o como una complicación de otras enfermedades y procedimientos quirúrgicos, por lo tanto, constituyen un problema sanitario importante que origina una elevada morbilidad, sobre todo en pacientes hospitalizados, mortalidad y consumo considerable de recursos (Páramo y col., 2006).

Se estima que en pacientes que no son tratados con terapia anticoagulante de forma profiláctica la incidencia de TVP desarrollada en pacientes hospitalarios es del 10% al 40% entre los pacientes médicos o de cirugía general, y entre 40%

y 60% en los pacientes intervenidos de cirugía ortopédica mayor, lo que puede derivar en complicaciones ocasionando un TEP, causante de un aproximado del 10% de las muertes hospitalarias. Es por ello que, la profilaxis con anticoagulantes debe ser una práctica esencial en los pacientes quirúrgicos y en los pacientes hospitalizados con factores de riesgo de desarrollar eventos tromboticos (Páramo y col., 2006).

Los anticoagulantes pueden ser tanto de administración oral como de administración parenteral. Se pueden clasificar de la siguiente manera: Anticoagulantes de acción directa: aquellos cuyo mecanismo de acción inhibe la cascada de coagulación directamente (los inhibidores de la trombina, como la heparina y los fármacos relacionados con ella, o interfieren en la síntesis de dichos factores); y anticoagulantes de acción indirecta: cuyo efecto terapéutico se obtiene por interacción con otras proteínas u otras vías metabólicas diferentes a la cascada de coagulación.

La terapia anticoagulante aporta grandes beneficios, pero también puede ocasionar eventos adversos. Los antagonistas de vitamina K (AVK) son la base del tratamiento anticoagulante oral; la warfarina es el medicamento más frecuentemente utilizado y con amplia evidencia de su efectividad. Con la entrada de los nuevos anticoagulantes orales que inhiben factores de la coagulación, como el Xa o IIa, la perspectiva de uso de warfarina ha venido modificándose. La hemorragia es la principal reacción adversa descrita para la warfarina. Es importante que el médico conozca el manejo de estos medicamentos, para optimizar sus beneficios y reducir el riesgo de eventos adversos. La hemorragia de vías digestivas es otra complicación importante, es más frecuente pero menos fatal.

En vista de la evidencia, la presente investigación tiene como objetivo evaluar el uso racional de anticoagulantes en pacientes hospitalizados en un centro de atención hospitalaria de la ciudad de Caracas, mediante la implementación de un Estudio de Utilización de Medicamentos, de tipo prescripción-indicación, con lo que se pretende determinar el perfil de uso de este grupo farmacológico en esa institución, así como las posibles interacciones farmacológicas y las intervenciones farmacéuticas requeridas en esta área. Para ello se pretende 1. Analizar la prescripción de medicamentos anticoagulantes a pacientes hospitalizados, con el fin de determinar la pertinencia de las mismas; 2. Identificar las posibles interacciones medicamentosas que se presenten en el esquema farmacoterapéutico de los pacientes hospitalizados; y 3. Determinar el perfil de uso de anticoagulantes en el centro de atención hospitalaria.

Materiales y Métodos

Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal de utilización de medicamentos, del tipo prescripción-indicación, en 38 pacientes hospitalizados que recibieron terapia anticoagulante, durante un período de tiempo comprendido entre marzo y abril de 2024, en un centro de atención hospitalaria privado de la ciudad de Caracas, Venezuela.

El criterio de inclusión para la obtención de la muestra fue las historias clínicas de pacientes hospitalizados cuya terapia farmacológica indicada incluye anticoagulantes, los cuales fueron administrados durante su hospitalización; estos datos fueron obtenidos a partir de la información disponible en el sistema de

distribución de medicamentos por dosis unitaria del servicio de farmacia.

Fueron excluidos del estudio pacientes hospitalizados que no se les administró anticoagulantes, pacientes hospitalizados en el área de pediatría, pacientes internados en la unidad de cuidados intensivos (UCI), y pacientes con enfermedad renal crónica, ya que son más propensos a hemorragias (Aucancela y col., 2024; Páramo, 2006; Gómez y col., 2021). De las historias clínicas se tomaron los siguientes datos: edad, sexo, diagnóstico y la prescripción de anticoagulantes, incluyendo dosis, vía de administración e intervalo, así como los medicamentos que se administraron de forma concomitante. Posteriormente, se elaboró una base de datos con la cual se determina el consumo de cada medicamento anticoagulante durante ese periodo de tiempo. Se tomó como tiempo promedio de estancia hospitalaria tres días, tanto para pacientes con tratamiento como para pacientes post quirúrgicos.

Con la información recolectada se elaboró una base de datos en Excel, la cual fue analizada en este mismo programa. Se efectuó un análisis descriptivo, se calcularon las proporciones, medidas de tendencia central y de dispersión. Para determinar las posibles interacciones farmacológicas existentes en los perfiles farmacoterapéuticos de los pacientes en estudio, se utilizó como base de datos la guía de 1.1315 Interacciones Farmacológicas de la Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria.

Resultados

Se incluyeron en el estudio 38 pacientes que recibieron terapia anticoagulante durante su hospitalización, cuya distribución

por sexo es la siguiente: Hombres = 19 pacientes (50%), y Mujeres = 19 pacientes (50%). El rango de edad estuvo comprendido entre los 22 y 93 años; la distribución por grupos etarios de los pacientes incluidos en el estudio se muestra en la Figura 1.

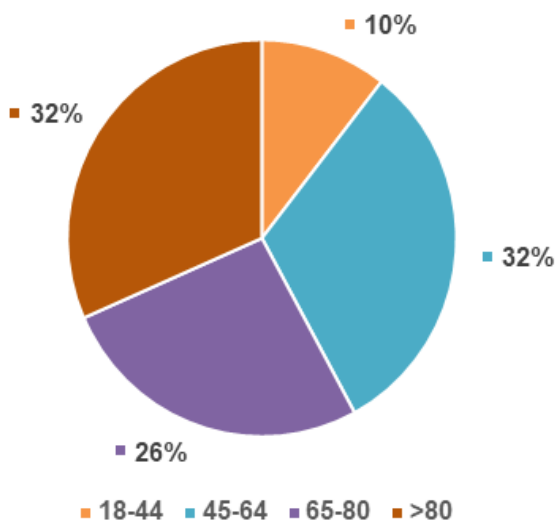


Figura 1. Distribución por grupos etarios de los pacientes del estudio. **Fuente:** Recolección de datos, cálculos propios

Algunos de los diagnósticos principales registrados para los pacientes durante su hospitalización fueron los siguientes: Accidente Cerebrovascular (ACV) isquémico, Arteriopatía Obstructiva en miembros inferiores, Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) descompensada, Estenosis aórtica moderada a severa, Infarto Agudo al Miocardio (IAM), Infección Respiratoria Baja, Sepsis de Punto de Partida, Post-Operatorio Inmediato (POI), Mediato (POM) y Tardío (POT) de distintas cirugías, tal como, Reemplazo total de cadera, Disección de hernias y Lipoabdominoplastia, sólo por mencionar algunas. La distribución de los diagnósticos principales entre los participantes se puede observar en la Figura 2.

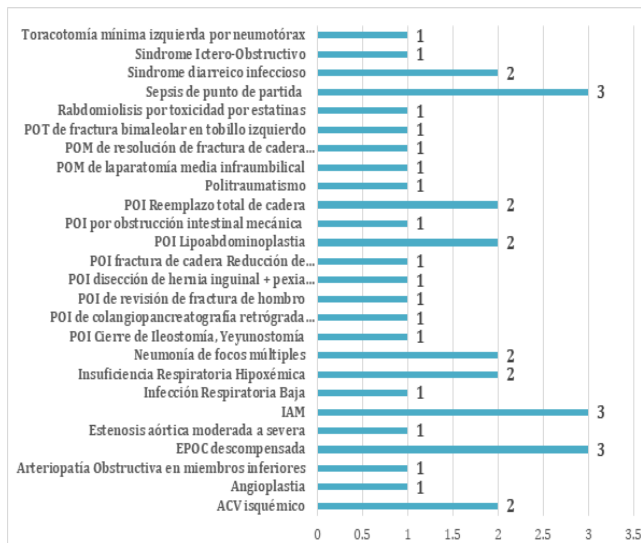


Figura 2. Diagnóstico principal registrado para el paciente durante su hospitalización. **Fuente:** Recolección de datos, cálculos propios

Los pacientes que recibieron anticoagulantes con fines terapéuticos fueron 9, posterior a patologías como: IAM, ACV y Tromboembolismo Pulmonar (TEP). Los 29 pacientes restantes recibieron terapia anticoagulante profiláctica, asociada muy probablemente a los diagnósticos anteriormente mencionados, según el riesgo de desarrollar Trombosis Venosa Profunda (TVP) o TEP.

DESCRIPCIÓN DE LA TERAPIA ANTICOAGULANTE

El anticoagulante más utilizado fue Enoxaparina en 34 pacientes (87,18%), seguido de Rivaroxabán en 4 pacientes (10,26%) y, por último, Warfarina en sólo un paciente (2,56%). Durante el periodo de tiempo en el que se recogieron los datos, sólo se efectuaron prescripciones de los tres fármacos anticoagulantes anteriormente mencionados. Enoxaparina fue administrada a todos los pacientes por vía subcutánea, mientras que Rivaroxabán

y Warfarina fueron administrados por vía oral. En los 34 pacientes que recibieron Enoxaparina, la dosis estuvo en un rango entre 20 a 80 mg; con una distribución de dosis de la siguiente manera: 3 pacientes (8,82%) recibieron una dosis de 20 mg, 20 pacientes (58,82%) recibieron 40 mg, 08 pacientes (23,53%) tuvieron una dosis de 60 mg; y 3 pacientes (8,82%) recibieron 80 mg. La frecuencia de administración de Enoxaparina fue cada 24 horas en 30 pacientes (88,24%) y cada 12 horas en 4 pacientes (11,76%).

La dosis de Rivaroxabán prescrita a 4 pacientes, estuvo en un rango de 20 mg y 15 mg diarios; 3 pacientes (75%) recibieron una dosis de 20 mg y 1 (25%) paciente recibió dosis de 15 mg cada 24 horas. Y un paciente con antecedentes de TEP, tuvo prescrito Warfarina a una dosis de 5 mg cada 24 horas.

Debido a que se realizó un estudio de corte transversal, es decir, la revisión sistemática se hizo en una sola oportunidad, se tomó en consideración el régimen farmacoterapéutico establecido para estos fármacos y un tiempo promedio de estancia de los pacientes hospitalizados de tres días,

para así determinar el consumo aproximado de estos medicamentos durante el período de estudio, obteniéndose que la indicación promedio de Enoxaparina en los pacientes estudiados, considerando un promedio de hospitalización de tres días, tanto para pacientes post quirúrgicos como pacientes médicos, tiene un valor de 161,3 mg/pac/3 días, con una Desviación Estándar de 100,31 mg, lo que indica una amplia dispersión; sin embargo, al referirnos a la mediana y la moda, éstas tienen un valor por debajo del promedio, ello lleva a concluir que la mayoría de los pacientes tienen una indicación por debajo del promedio, aun con la amplia dispersión. Asimismo, el valor de asimetría es positivo y mayor a 1, lo cual refleja una curva cuya cola está hacia la derecha y la mayoría de los valores se concentran hacia el lado izquierdo; esto puede observarse en la Figura 3. En este sentido, la indicación médica de Enoxaparina por paciente para tres días de hospitalización promedio, se ajusta a valores inferiores a 160 mg y cercanos a 120 mg. De hecho, el 82% de la indicación de Enoxaparina tiene valores inferiores a 186 mg para los tres días de estancia promedio.

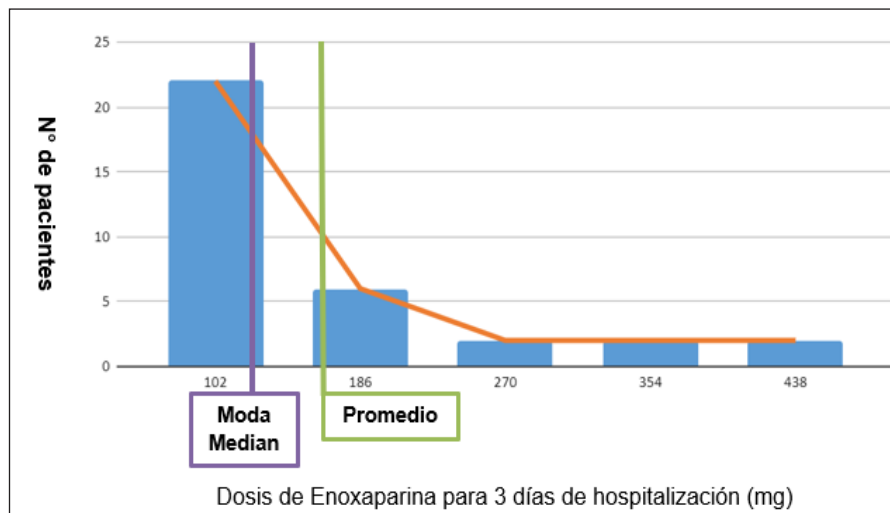


Figura 3. Consumo de Enoxaparina.

Fuente: Recolección de datos, cálculos propios

En cuanto a la indicación de Rivaroxabán, la cual se registró para 4 pacientes del estudio, tiene un valor de 67,5 mg/pac/3 días, con una Desviación Estándar de 15 mg, con lo que podemos inferir que la dispersión no es tan alta en comparación con Enoxaparina. La mediana y la moda tienen valores iguales (60 mg), lo que quiere decir que la distribución de los datos es simétrica.

Finalmente, para la Warfarina, cuya indicación fue registrada en sólo un paciente, no es posible determinar un consumo promedio para tres días de estancia hospitalaria que sea significativo.

INTERACCIONES FARMACOLÓGICAS

Se identificaron 20 interacciones farmacológicas de los anticoagulantes con los demás medicamentos que tenían prescritos en 18 de los 38 pacientes del estudio, lo que representa un 47% de la muestra (Figura 4). La mayoría de las interacciones farmacológicas identificadas se corresponden con la administración concomitante de anticoagulantes con antiagregantes plaquetarios, tales como

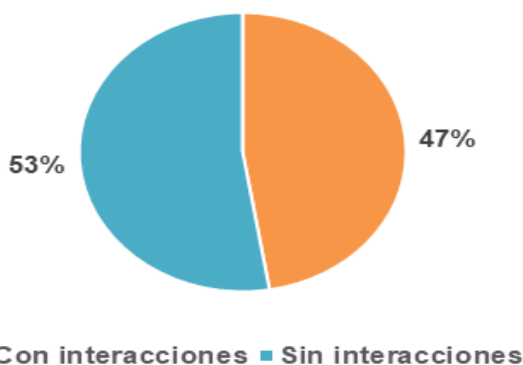


Figura 4. Distribución de los pacientes con interacciones farmacológicas en la muestra. **Fuente:** Recolección de datos, cálculos propios

Clopidogrel, Ácido Acetilsalicílico (ASA) y Ticagrelor, lo que aumenta el riesgo de hemorragia, encontrándose un total de 9 pacientes (50% de todas las interacciones identificadas) con prescripción de anticoagulantes y antiagregantes plaquetarios de forma concomitante, distribuidos de la siguiente forma: 4 pacientes con la prescripción conjunta de Enoxaparina y Clopidogrel, 1 paciente con Rivaroxabán y Clopidogrel, 1 paciente con Enoxaparina y ASA, 1 paciente con Enoxaparina y Ticagrelor, y 2 pacientes a los que se les prescribió de forma concomitante Enoxaparina, ASA y Clopidogrel (Figura 5).

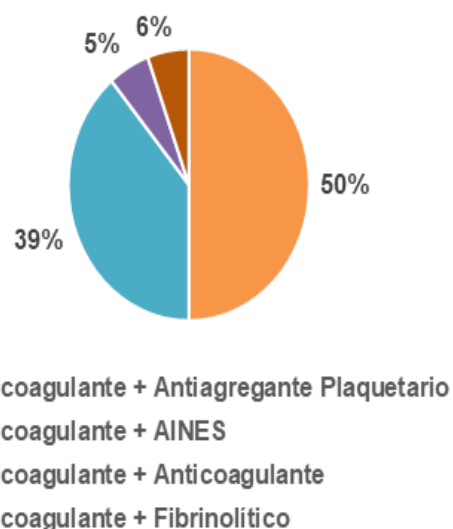


Figura 5. Distribución de las Interacciones Farmacológicas. **Fuente:** Recolección de datos, cálculos propios

Otra de las interacciones farmacológicas identificadas de importancia es la que sucede al administrar de forma concomitante anticoagulantes con Antiinflamatorios No Esteroideos (AINES), tal como el Ketoprofeno y el Ketorolaco, lo que pudiera también aumentar el riesgo de sangrado por la adición del efecto antiagregante plaquetario. Durante la investigación, fueron identificadas 7 interacciones de

este tipo (39% de todas las interacciones identificadas), 5 correspondientes a la prescripción conjunta de Enoxaparina y Ketoprofeno y 2 correspondientes a la prescripción conjunta de Enoxaparina y Ketorolaco.

A su vez, se encontró un paciente con doble indicación de anticoagulante (Enoxaparina y Rivaroxabán) posterior a un IAM, la administración concomitante de estos fármacos también aumenta el riesgo de hemorragia. Finalmente, se registró un paciente a quien se le administró Alteplase al ingresar al centro con diagnóstico de ACV, y posteriormente se le indicó la administración de Enoxaparina, esta posible interacción también puede aumentar el riesgo de sangrado.

Discusión

El uso del anticoagulante ha presentado una mayor tendencia hacia su uso profiláctico, aun cuando su uso terapéutico se mantiene, tal y como se observa en el presente estudio, en el cual se presenta un porcentaje de indicación profiláctica de 76,32%, para prevenir TVP o TEP.

En cuanto a las interacciones identificadas en el estudio, se identificaron 20 interacciones farmacológicas en 18 pacientes (47,40%), principalmente de los anticoagulantes con antiagregantes plaquetarios (50%) y AINES (38,88%). Se encontró un caso de doble indicación de anticoagulante y otro de administración concomitante de Alteplase y Enoxaparina.

Nuestros resultados están en línea con los reportados por Vallejos-Narvaez y col., 2020 quienes, en un estudio descriptivo, transversal, no aleatorizado, en 138

pacientes hospitalizados mayores de edad en una institución de cuarto nivel de atención con tratamiento anticoagulante terapéutico y profiláctico, abordó el tipo de fármaco indicado, periodicidad, efectos adversos, interacciones farmacológicas y causalidad de las reacciones adversas. Estos autores encontraron que el anticoagulante con mayor frecuencia de uso fue enoxaparina (68%), el control más utilizado fue el tiempo de protrombina (60,39%), interacciones farmacológicas se identificaron en 47,1%, las más frecuentes con ácido acetil salicílico (29,7% del total de interacciones), las reacciones adversas más frecuentes fueron de índole hematológico (58,3%); y la evaluación de causalidad de reacciones adversas fue 4,2% probable. Las interacciones farmacológicas de los anticoagulantes fueron muy frecuentes, especialmente con warfarina. Las reacciones adversas de mayor ocurrencia fueron las de tipo hemorrágico; y la evaluación de causalidad fue de categoría posible para la mayoría de estas reacciones adversas. Igualmente, en apoyo a nuestros hallazgos está el estudio de Sánchez-Garrido Escudero y col., (2006), quienes evaluaron las interacciones farmacológicas en 96 pacientes tratados con anticoagulantes orales en una zona de salud rural mediante un estudio longitudinal, retrospectivo. En el mismo concluyen que el número de fármacos usados por los pacientes tratados con anticoagulantes orales se relaciona con la probabilidad de presentar complicaciones hemorrágicas; el tiempo fuera de rango terapéutico y el uso del alopurinol, conjuntamente, incrementan el riesgo de presentar hemorragias en pacientes anticoagulados. Por ello sugieren que es necesario intensificar el control del tiempo de protrombina (INR) en pacientes anticoagulados y polimedicados y procurar que las concentraciones de cumarínicos

se encuentren en el rango terapéutico, manteniendo los tratamientos.

Nuestros hallazgos sugieren que el uso de anticoagulantes en este centro hospitalario en Caracas es en general racional, con una predominancia de prescripción de Enoxaparina de forma profiláctica. Sin embargo, se identificó un porcentaje significativo de interacciones farmacológicas, que podrían aumentar el riesgo de hemorragia, por lo que es necesario evaluar la relación riesgo/beneficio, así como debe monitorizarse la coagulación mediante el registro de tiempo de protrombina y vigilar la aparición de sangrado.

Conclusiones

En este estudio en pacientes hospitalizados, el anticoagulante más utilizado fue Enoxaparina, seguido de Rivaroxabán y un paciente con Warfarina. Los anticoagulantes fueron prescritos de forma pertinente durante la ejecución de este estudio, en su mayoría con fines profilácticos, pero también con fines terapéuticos, posterior a patologías como IAM, ACV y antecedentes de TEP.

Las interacciones farmacológicas con este grupo terapéutico son frecuentes, sin embargo, las que se identificaron no son limitantes para el uso de los anticoagulantes como se ha venido haciendo. En este sentido, se recomienda evaluar la relación riesgo/beneficio de la utilización de anticoagulantes de forma concomitante con antiagregantes plaquetarios, AINES y fibrinolíticos para determinar la alternativa más adecuada para el paciente, así como garantizar el monitoreo de los tiempos de coagulación durante el tratamiento.

Como es de esperarse, esta investigación puede generar una pauta de inicio de investigaciones con otras metodologías sobre el uso de anticoagulantes en pacientes hospitalizados en la institución hospitalaria donde se realizó y seguramente en otras. Así como también puede ser el inicio para llevar a cabo otros Estudios de Utilización de Medicamentos enfocados en otros grupos terapéuticos, con el propósito de promover el uso racional de medicamentos en el ámbito hospitalario.

Agradecimientos

A la Facultad de Farmacia de la Universidad Central de Venezuela. A mi tutora la Dra. Lesbia Muro, Coordinadora de la Mención Sanitario - Asistencial. A la Policlínica Metropolitana, en especial a su Directora Médica, la Dra. Flor Sayago, quienes permitieron la ejecución de este proyecto de investigación en tan prestigiosa institución; a la Dra. Marabia Escobar, Gerente del Servicio Farmacéutico; Dra. Nelly Medina, Farmacéutico Adjunto de la Gerencia del Servicio Farmacéutico; Dra. Diana Mayo, Dra. Steffany Negrin, Dra. Yadira Vázquez, Dr. Anthony Infante, Farmacéuticos Coordinadores del Servicio Farmacéutico, por su valiosísima colaboración y acompañamiento durante el desarrollo de la investigación; asimismo, extendiendo mi agradecimiento a la Dra. Lea De Michele, Regente de la Farmacia de la Policlínica Metropolitana, respectivamente.

Conflicto de interés

Los autores declaran que no existe conflicto de interés.

Referencias Bibliográficas

- Altimiras J, Bautista J, Puigventós F. 2002. Farmacoepidemiología y estudios de utilización de medicamentos. En: Farmacia Hospitalaria Tomo I. Ed: Gamundi, M. C. Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria: 541-573.
- Aucancela AL, Colcha MC, Andrade JF, Cortés AJ, Alverca SC, Pumisacho DM, Guaman JA. 2024. Enfoques innovadores en el uso de anticoagulantes en enfermedades cardiovasculares: Un análisis detallado desde la perspectiva de la Medicina Interna. *Tesla Revista Científica* 4(1), e320.
- Girona-Brumós L. 2020. 1.315 Interacciones Farmacológicas. Editorial Médica Jims, S.L. Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria 2(1): 623-630.
- Gómez P, Santana A, Arjona J. 2021. Anticoagulación oral en la enfermedad renal crónica con fibrilación auricular. *Revista de Nefrología Sociedad Española de Nefrología* 41(2): 91-226.
- Molina D, Campos M, Núñez A. 2020. Historia de los anticoagulantes y su uso clínico en el presente. *Rev Méd Sinerg* 5(2):e365.
- Páramo JA, Feliu J, Iglesias R, Ruiz de Gaona E, Lecumberri R. 2006. Profilaxis del tromboembolismo venoso: recomendaciones en pacientes médicos y sistema de alarma electrónica en pacientes hospitalizados. *Rev Med Univ Navarra* 50(1): 17-23.
- Sánchez-Garrido Escudero R, Molina Casado MP, Rodríguez Idígoras MI, Martínez González JL, Escolar Castellón JL. 2006. Interacciones farmacológicas en pacientes tratados con anticoagulantes orales en una zona de salud rural. *Atención Primaria* 38(8):427-432.
- Vallejos-Narváez Á, Bello Benavides A, Domínguez M, Cuervo M, Fajardo D, Quiroga C, García A, Zhong-Lin C, Arévalo K, Buitrago T, Castro M. 2020. Perfil de uso de anticoagulantes en pacientes hospitalizados, interacciones farmacológicas y reacciones adversas identificadas. *Rev Colomb Cienc Quím Farm* 49(1): 137-158.



Evaluación *in vivo* e *in vitro* de parámetros toxicológicos de la cloroquina y el extracto acuoso de *Azadirachta indica* A. Juss

In vivo and *in vitro* evaluation of toxicological parameters of chloroquine and the aqueous extract of *Azadirachta indica* A. Juss

MARÍA E ACOSTA^{*1}, NEIRA GAMBOA DE DOMÍNGUEZ^{**2}, MARÍA A OSUNA^{**3}

Resumen

El uso de combinaciones de fármacos con plantas medicinales es recomendado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para el tratamiento de diversas enfermedades, entre ellas la malaria, por sus efectos terapéuticos. En virtud de tal contexto, en este trabajo, se propone evaluar los parámetros toxicológicos de las combinaciones de Cloroquina (CQ), quinolina usada ampliamente para el tratamiento de la malaria y otras patologías con el extracto acuoso de la hoja de la planta *Azadirachta indica* A. Juss, conocida popularmente como Neem (EAN), tanto en estudios *in vivo*, utilizando ratones sanos, como en ensayos *in vitro* usando células Vero, una línea celular continua de mamíferos, derivada del riñón del mono verde africano (*Chlorocebus aethiops*), con la finalidad de determinar los efectos tóxicos intrínsecos de estos compuestos evaluados solos o combinados. Para ello, se estudiaron los parámetros toxicológicos de los tratamientos con CQ, EAN o combinaciones de CQ+EAN en ratones, a las siguientes concentraciones: CQ20mg/Kg (CQ20); EAN10mg/Kg (EAN10); EAN20mg/Kg (EAN20); CQ20mg/Kg+EAN10mg/Kg (CQ20+EAN10) y CQ20mg/Kg+EAN20mg/Kg (CQ20+EAN20). Los resultados demostraron que el EAN revierte el aumento de los niveles de las enzimas marcadoras de daño hepático (ALT, AST y GGT) producido por la CQ. Aunado a este efecto, el EAN revierte la disminución del porcentaje de viabilidad celular generado por la CQ en las células Vero a concentraciones de 0,01; 0,1; 1; 10 y 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y disminuye el porcentaje de hemólisis inducido por la CQ. Esto sugiere que el EAN es hepatoprotector, hemoprotector y nefroprotector, por lo que se podría ser utilizada como coadyuvante para reducir la toxicidad generada por el tratamiento con CQ.

Palabras clave: Cloroquina, Extracto acuoso, *Azadirachta indica* A. Juss, Neem, Parámetros Toxicológicos

Abstract

Due to their therapeutic effects, the use of combinations of drugs with medicinal plants is recommended by the World Health Organization (WHO) for the treatment of various diseases, such as malaria. In this context, in this work, it is proposed to evaluate the toxicological parameters of the combinations of Chloroquine (CQ), quinoline widely used for the treatment of malaria and other pathologies, with the aqueous extract of the leaf of the plant *Azadirachta indica* A. Juss, popularly known as Neem (EAN), both *in vivo* studies using healthy mice, and *in vitro* assays, using Vero cells, a continuous mammalian cell line, derived from the kidney of the African green monkey (*Chlorocebus aethiops*), to determine the intrinsic toxic effects of these compounds evaluated alone or in combination. To this end, the toxicological parameters of CQ, EAN and the combinations of CQ+EAN in mice were studied, at the following concentrations: CQ20mg/Kg (CQ20); EAN10mg/kg (EAN10); EAN20mg/kg (EAN20); CQ20mg/Kg+EAN10mg/Kg (CQ20+EAN10) and CQ20mg/Kg+EAN20mg/Kg (CQ20+EAN20). The results demonstrated that EAN restores the increased levels of liver damage marker enzymes (ALT, AST and GGT) produced by CQ. In addition to this effect, EAN reversed the decrease in the percentage of cell viability generated by CQ in Vero cells at concentrations of 0.01; 0.1; 1; 10 and 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and decreased the percentage of hemolysis of CQ. This suggests that the EAN is hepatoprotective, hemoprotective, and nephroprotective; therefore, it could be used as an adjuvant to reduce the toxicity generated by treatment with CQ.

Keywords: Chloroquine, Aqueous extract, *Azadirachta indica* A. Juss, Neem, Toxicological parameters

*Unidad de Bioquímica. Facultad de Farmacia. UCV; **Escuela José María Vargas Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela, Caracas. Venezuela. Correspondencia: mariuacosta0103@gmail.com

Orcid: [10000-0003-0721-0046](https://orcid.org/0000-0003-0721-0046)

[20000-0002-9918-0413](https://orcid.org/0000-0002-9918-0413)

[30009-0007-7077-7658](https://orcid.org/0009-0007-7077-7658)

DOI: [10.54305/RFFUCV.2025.88.1-2.8](https://doi.org/10.54305/RFFUCV.2025.88.1-2.8)

Disponible: http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_ff

Recepción: 14/04/2025

Aprobación: 22/04/2025

Rev. Fac. Farmacia 88(1): 71-86. 2025

Introducción

La cloroquina (CQ) es utilizada en diversas patologías, principalmente como tratamiento de la malaria, en cuya infección descansa fundamentalmente un uso de un número limitado de fármacos; que presentan en su mayoría restricciones desde el punto de vista farmacológico, toxicológico y a los cuales el *Plasmodium* ha desarrollado resistencia (Acosta y Gamboa, 2017). Entre los fármacos más utilizados están las 4-amino-quinolinas (quinina, cloroquina (CQ), amodiaquina, tafenoquina) (Oghenesuvwe y col., 2021), siendo la CQ más usada, representando el fármaco de cuyo núcleo farmacofórico se tienen referencias que datan desde hace más de dos siglos.

Existe evidencia de varios efectos adversos asociados con la CQ, incluyendo molestias gastrointestinales, reacciones alérgicas, miocardiopatía, defectos de la conducción cardíaca, neuromiototoxicidad, citopenias e hiperpigmentación cutánea.

Igualmente se ha reportado toxicidad de la CQ, en órganos blancos como cerebro, corazón, riñones, e hígado (Kumar y col., 2013), que en muchos casos es debido a su potencial oxidativo. Estos efectos, en cierta medida, nocivos para el paciente, han despertado el interés por el estudio del efecto antioxidante (u otros) de muchas sustancias naturales o sintéticas, para ser administradas en conjunto con la CQ, con la finalidad de controlar los efectos tóxicos intrínsecos del mismo, así como por la propia enfermedad.

Entre las sustancias naturales, la planta *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) posee una serie de efectos pleiotrópicos, entre los que destacan en enfermedades de la piel, úlceras gástricas y duodenales, constipación,

reumatismo, antiinflamatorios, antimalárico, hipolipemiente, anticancerígeno, antiviral, antibacteriano, antiparasitario, antifúngico, nefroprotector y hepatoprotector (Alzohairy y col., 2016; Deshpande y col., 2014, Islas y col., 2020; Sarkar y col., 2022). Los estudios *in vitro* e *in vivo* indican que los extractos acuosos, metanólicos o etanólicos de tallos, hojas o cortezas de Neem producen una disminución de los efectos tóxicos producidos por la infección malárica (Tepongning y col., 2018).

Dentro de este contexto, el trabajo de investigación que se presenta a continuación se enfocó en la evaluación de los parámetros toxicológicos de las combinaciones del extracto acuoso de las hojas de la planta *Azadirachta indica* A. Juss (EAN) con el fármaco cloroquina (CQ). La selección de EAN se basó en sus efectos antimaláricos, antimicrobianos, antioxidantes, inmunomoduladores, antipiréticos, analgésicos, antiinflamatorios, antidiabéticos, estimulador del apetito y diurético (Iwalewa y col., 1999; Sujarwo y col., 2016; Rathod y col., 2022), así como a su uso frecuente en poblaciones como tratamiento de diversas enfermedades. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el uso de plantas medicinales a nivel mundial supera dos veces al de los medicamentos convencionales, es decir, más del 40 % de la población utilizan plantas medicinales como tratamientos en la atención primaria de la salud, principalmente, en países subdesarrollados, debido a sus bajos costos; a la creencia de que su consumo es inocuo; a su accesibilidad y a que presentan menores efectos adversos (OMS, 2023; Gupta y col., 2001).

La planta *Azadirachta indica* A. Juss, es un árbol tropical de hoja perenne originario

del subcontinente indio, cultivado en varias partes del mundo, como Asia, África, América Central y América del Sur. Perteneció a la familia Meliaceae, del género *Azadirachta*, de la especie *Azadirachta indica* (Biswas y col., 2002). En algunas partes del mundo esta planta es conocida como la "Farmacia del Pueblo" (Alzohairy y col., 2016). La planta *Azadirachta indica* (NEEM) se utiliza como medicina herbaria tradicional. Estudios señalan que posee componentes terapéuticos potenciales en sus hojas, corteza, raíz y flores (Udeiya y col., 2008).

La Academia Nacional de Ciencia de los Estados Unidos (NAS) en un reporte publicado en 1992, señala al Neem como la planta utilizada para resolver problemas de salud global y diez años más tarde las Naciones Unidas la declaran como el "Árbol del siglo XXI" (NAS, 1992; UNEP, 2012). Las investigaciones químicas determinan el aislamiento de 135 componentes terapéuticos extraídos de las diferentes partes de la planta (Biswas y col., 2002).

Los compuestos derivados del Neem se han clasificado en dos clases principales: Isoprenoides y los no isoprenoides. Entre los isoprenoides se encuentran los diterpenoides y triterpenoides que contienen a su vez, limonoides, azadirona, protomeliacinas y sus derivados, vilasinina, gedunina, salanina, nimbina y azadirachtina y los esteroides. Los no isoprenoides incluyen carbohidratos (polisacáridos), proteínas, cumarinas, compuestos sulfurosos, polifenoles (β -sitosterol y la quercetina), flavonoides, dihidrochalconas, taninos, margalona, margalona e isomargalona, ácidos grasos y ésteres (Dkhil y col., 2021, Latify col., 2020; Moin y col., 2020). La concentración de fitocomponentes puede variar según el modo de cosecha, almacenamiento,

contenido de humedad, luz, temperatura y variaciones de pH (Rolim Baby y col., 2022).

En estudios realizados se pudo determinar que en los extractos acuosos se encuentran altos niveles de saponina, taninos y glucósidos. Mientras que, en los extractos metanólicos hay un aumento de alcaloides, taninos y flavonoides (Dash y col., 2017). El compuesto Azadiradiona que presenta propiedades antiinflamatorias muestra también su potencial citotóxico al servir como modulador del factor inhibidor de la migración de macrófagos (MIF), que es una citocina proinflamatoria que se une a su receptor CD74 en la superficie de las células y activa vías de señalización que influyen en la inflamación, la respuesta inmune y la función celular. El MIF puede inhibir la migración de macrófagos y, a su vez, promover la infiltración y proliferación de estos en los sitios de inflamación. El MIF es responsable del desarrollo de las reacciones proinflamatorias de varias enfermedades, inhibiendo su actividad tautomérica y la capacidad de NF κ B para translocar, impidiendo la liberación de citoquinas proinflamatorias como IL-1 α , IL-1 β , IL-6 y TNF- α (Alam y col., 2012).

Al proporcionar datos adicionales convincentes para la investigación de productos de Neem como terapéuticos, Somsak y col. (2015) utilizaron el modelo de ratón de infección por *Plasmodium* para demostrar que un extracto acuoso de hoja de Neem puede reducir los marcadores sanguíneos relacionados a una lesión renal inducida por malaria a niveles normales sin ser tóxico para los animales. En conjunto, los datos disponibles *in vitro* e *in vivo* sugieren que las plantas utilizadas en la medicina tradicional (por ejemplo, Neem) deberían explorarse más a fondo en ensayos clínicos.

En este trabajo se seleccionó la CQ, por ser el *gold standard* tanto para el tratamiento de la malaria, como para las enfermedades autoinmunes. Su uso combinado con el EAN podría reducir la toxicidad inducida tanto por la malaria *per se*, como por la utilización de CQ como tratamiento antimalárico.

El uso de la CQ en malaria data de más de 60 años y ejerce su acción en la vacuola digestiva inhibiendo la formación de la hemozoína en los estadios eritrocíticos de anillo y trofozoítos. La CQ entra en la vacuola digestiva del parásito por difusión simple, pero el pH ácido de la vacuola (pH ~ 5,2) conduce a su diprotonación, lo que impide su salida por difusión a través de la membrana. La CQ diprotonada atrapada en el interior de la vacuola inhibe la transformación del hemo (Ferroprotoporfirina IX, FP IX) en hemozoína (Acosta y Gamboa, 2017). Esto conlleva a la acumulación del hemo dentro de la vacuola digestiva generando la muerte del parásito. Las quinolinas incrementan el grupo hemo e induce la formación de especies reactivas de oxígeno (ERO) en el eritrocito, lo que induce la peroxidación lipídica y la hemólisis. Por su parte, la artemisinina induce la producción de hemo libre y ERO que origina una rápida despolarización del potencial de membrana y la destrucción e inhibición de la mitocondria del parásito (Pereira y col., 2020).

En la presente investigación se plantea la evaluación de la combinación del antimalárico CQ con el EAN, ampliamente usado para diversas enfermedades y con una amplia variedad de efectos pleiotrópicos. Siempre es de gran interés estudiar el extracto acuoso de hojas, por ser lo más parecido al consumo de infusiones que son preparados con aplicación de calor por la

población, donde se extraen los principios activos más polares y por ende, los tóxicos que presente, necesarios para el estudio farmacológico y toxicológico.

El objetivo principal de este trabajo se fundamentó en la posibilidad de evaluar los parámetros toxicológicos del EAN cuando se administra solo o en combinación con la CQ. Dichos parámetros consisten en determinar las modificaciones de los niveles de enzimas marcadores de daño hepático en suero de ratones tratados con las combinaciones de CQ y EAN, determinar a DL_{50} en ratones tratados con estas combinaciones, determinar la lisis eritrocitaria de CQ con EAN y evaluar *in vitro* la viabilidad celular en células Vero tratadas con las combinaciones de CQ con EAN.

Materiales y Métodos

ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Se utilizaron ratones macho de la cepa INH, con pesos comprendidos entre 18-20 g, provenientes del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel (MPPS, Caracas). Los animales fueron mantenidos en cajas plexiglás en ciclos de 12 horas luz / oscuridad, con agua y alimento (Ratarina[®]) *ad libitum*. La investigación cumplió con las normas de bioética contenidas en la Guía "*Principles of laboratory animal care*" (Principios de cuidados de animales de laboratorio) (Anónimo, 1985).

Se utilizaron reactivos de alta calidad analítica, obtenidos localmente o de SIGMA-Aldrich Chemical Co y STANBIO Laboratory. La Cloroquina (CQ) fue adquirida de la casa comercial SIGMA-Aldrich Chemical Co., Lote 109H1097. La dosis de CQ se seleccionó en base a un estudio *in vivo* en

ratones (Acosta y col., 2022), en el cual la CQ posee efectos antimaláricos a la dosis terapéutica de 20 mg/Kg de peso corporal, por vía i.p.

RECOLECCIÓN DE PLANTAS NEEM Y LIOFILIZADO DE LA HOJA DE *AZADIRACHTA INDICA* A. JUSS

Las muestras de las plantas *Azadirachta indica* A. Juss "NEEM" fueron recolectadas en la comunidad Provincial, localidad de Puerto Ayacucho, estado Amazonas. Un espécimen testigo reposa en el Herbario Víctor Manuel Ovalles, de la Facultad de Farmacia, de la Universidad Central de Venezuela, bajo el número MYF 29534.

Las hojas frescas (30 g) fueron cortadas en trozos pequeños y sometidas a decocción en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, utilizando 50 mL de agua destilada, durante 15 minutos. La solución fue filtrada, enfriada y sometida a un proceso de liofilización para obtener un sólido marrón claro (95 g) que fue reconstituido en agua destilada al momento del experimento. Este extracto fue denominado extracto acuoso de *Azadirachta indica* A. Juss (EAN).

La dosis del EAN se seleccionó en base a la determinación de la DL_{50} calculada por el Método Spermar-Karber (Hamilton, 1978) por vía i.p., resultando la misma en 45,32 mg/Kg en ratones. Se seleccionaron las dosis de 10 y 20 mg/Kg porque está por debajo de la DL_{50} calculada y porque coincide con estudios *in vivo* en ratones a esas dosis por vía i.p (Akin-Osanaiyay col., 2013). Se utilizó CQ a 20mg/Kg; EAN a 10 y 20mg/Kg, que se prepararon diluyendo apropiadamente al 2% en solución NaCl 0,9%. Ambos compuestos fueron administrados a los animales por vía i.p. de forma separada.

Los grupos experimentales fueron;

1. Grupo control sano: Animales sanos que recibieron 0,1 mL de solución fisiológica (NaCl 0,9%) por vía i.p, durante 5 días.
2. Grupos sanos con tratamiento.

Los tratamientos administrados a los ratones fueron los siguientes:

No.	Sub-GRUPO	TRATAMIENTO (i.p / día)
1	CQ20	CQ 20 mg/Kg
2	EAN 20	EAN 20 mg/Kg
3	EAN 10	EAN 10 mg/Kg
4	CQ20 + EAN 20	CQ 20 mg/Kg + EAN 20mg/Kg
5	CQ 20 + EAN 10	CQ 20 mg/Kg + EAN 10 mg/Kg

Cada ratón fue tratado con 0,1 mL del tratamiento indicado, una vez al día, durante 5 días consecutivos. En el día 5° de tratamiento, se tomaron al azar 5 ratones de cada uno de los grupos experimentales establecidos, fueron anestesiados con éter. Posteriormente, se realizó un corte a nivel braquial. Una vez separada la piel, se expuso la vena braquial, y se le practicó una incisión con tijeras. La sangre expelida se recolectó por aspiración con pipetas plexiglás y se colocó en tubos Eppendorf. Una vez formado el coágulo, los tubos se centrifugaron a 700 rpm por 10 minutos, en una microcentrífuga y el suero obtenido fue separado y almacenado en otro tubo Eppendorf, hasta la realización de la determinación de las enzimas alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST) y la gamma-glutamyl transferasa (GGT).

Parámetros Toxicológicos

DETERMINACIÓN DE MARCADORES DE HEPATOTOXICIDAD Y CITOTOXICIDAD EN SUERO

Como medida de la hepatotoxicidad se determinó en suero la actividad de algunas isoenzimas marcadoras específicas hepáticas como la Aspartato aminotransferasa (AST) y la Alanina aminotransferasa (ALT). Se determinó la lactato deshidrogenasa (LDH) y la gamma glutamil transpeptidasa (GGT) como marcadores de citotoxicidad.

ALANINA AMINOTRANSFERASA (ALT/ SGPT)

La alanina aminotransferasa cataliza la transaminación reversible de un grupo amino de la L-alanina al α -cetoglutarato con formación de piruvato y L-glutamato. Para esta determinación se utilizó el método descrito por Wroblewski y La Due (1956), empleando un kit comercial de STANBIO Laboratory. Brevemente, 1 mL de la mezcla de reacción (67 mM Tris pH 7,5, 200 mM L-alanina, 0,5 U LDH, 10 mM α -cetoglutarato y 0,15 mM NADH (sal disódica) fue incubada durante 3 minutos a 37°C, se le agregó 0,1 mL de suero (muestra problema). El cambio de absorbancia se registró a intervalos de 1 minuto, durante 3 minutos, en un espectrofotómetro (STAT FAX) a 340 nm.

ASPARTATO AMINOTRANSFERASA (AST/ SGOT)

La aspartato aminotransferasa (AST o GOT) cataliza la transaminación reversible del grupo amino entre el aspartato y el α -cetoglutarato, produciendo oxaloacetato y glutamato. Para esta determinación se utilizó método descrito por Wroblewski y La Due (1956), empleando un kit comercial de STANBIO Laboratory. Brevemente, 1 mL

de la mezcla de reacción (67 mM Tris pH 7,5, 200 mM L-aspartato, 0,5 U MDH, 10 mM α -cetoglutarato y 0,15 mM NADH (sal disódica), fue incubada durante 3 minutos a 37°C, se le agregó 0,1 mL de suero (muestra problema). El cambio de absorbancia se registró a intervalos de 1 minuto, durante 3 minutos, en un espectrofotómetro (STAT FAX) a 405 nm.

DETERMINACIÓN DE LA γ -GLUTAMIL TRANSFERASA (GGT)

Se emplea el método descrito por Tietz de 1976 (Rogić, 2008), adaptado a microplacas, que se fundamenta en la capacidad de la GGT presente en la muestra de catalizar la transferencia de un grupo gamma-glutamil desde el sustrato incoloro gamma-glutamil-p-nitroanilina, al aceptor, glicilglicina. La concentración del producto coloreado formado, p-nitroanilina, se cuantifica espectrofotométricamente a 405 nm. Para esta determinación se utilizó el kit comercial de STANBIO Laboratory. Brevemente, 200 μ L de la mezcla de reacción (0,032 mM L- γ -glutamil-3 carboxi-4 nitroanilina, 4 mM Tris pH 8,5 y 4 mM glicilglicina), fue incubada durante 3 minutos a 37°C, luego se le agregó 20 μ L de suero (muestra problema). El cambio de absorbancia registró a intervalos de 1 minuto durante 3 minutos, en un lector de placas, a 405 nm.

DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL CINCUENTA (DL_{50}) Y SINTOMATOLOGÍA

La Dosis Letal 50 (DL_{50}) o LD_{50} (Lethal Dose 50) es una medida de toxicidad aguda que indica la cantidad de una sustancia que, al ser administrada de una sola vez, causa la muerte al 50% de un grupo de

animales de prueba. En otras palabras, es la dosis que produce la muerte en la mitad de los individuos de un grupo experimental animales ensayados. La DL_{50} se determinó mediante el método de Spermar – Karber (Hamilton y col., 1978), inyectando por vía i.p un volumen de 0,1 mL diluciones seriadas de CQ con EAN: CQ (1600, 800, 400, 200 y 100 mg/Kg) EAN (600, 300, 200, 100 y 50 mg/Kg); y CQ/EAN (1600/600; 800/300; 400/200; 200/100 y 100/50 mg/Kg) en ratones macho de peso entre 18-20g. Se emplearon 4 ratones por dosis para un total de cinco dosis a ensayar, los animales se observaron por un período de 48 horas, anotando los signos clínicos observados durante 90 minutos (Campbell y Ritcher, 1967). Los animales de grupo control fueron inyectados con solución fisiológica (NaCl 0,9%).

Determinación *in vitro* de la viabilidad celular en células Vero tratadas con las combinaciones de CQ con EAN

LÍNEAS CELULARES

Para los experimentos *in vitro* fueron empleadas las células Vero en cultivo, una línea celular de epitelio renal de mono verde africano (*Chlorocebus aethiops*), que fueron adquiridas en el Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel". Las células se cultivaron hasta confluencia en condiciones de 5% de CO_2 a 37 °C en medio completo que contiene: DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*), 10% de suero fetal de bovino y 1% de penicilina/estreptomicina. Luego se lavaron 2 veces con PBS (buffer salino-fosfato) y se lisaron con tripsina 0,025 M en EDTA dejando incubar a 37°C por 5 minutos para luego centrifugar por 10 minutos a 2200 rpm. El sedimento se trató con solución salina

tamponada con fosfato (PBS) para formar una suspensión de células, la cual se utilizó para realizar los ensayos correspondientes. Para ello, se incubaron 5000 células por pozo en placas de cultivo de 96 pozos con medio completo (5% CO_2 a 37°C), bajo un ambiente de 8 mM de glucosa durante 24 horas. El medio se removió y se reemplazó por medio completo fresco con el siguiente esquema de tratamientos: pozos controles, CQ y EAN solos o combinados a concentraciones de 0,01; 0,1; 1; 10 y 100 $\mu g/mL$. Bajo estas condiciones las células se cultivaron (5% CO_2 a 37°C) durante 96 horas, reemplazando con medio nuevo sobre el mismo esquema cada 24 horas. Al término de este tiempo el medio fue nuevamente reemplazado, pero solo con medio completo. Se preparó una solución de bromuro de 3- [4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolium (MTT) (2,5 mg/mL) y se añadió 100 μL de ésta a cada pozo de la placa. Las placas se incubaron por 3h (5% de CO_2 a 37°C). Posteriormente se eliminó el sobrenadante de cada pozo y la monocapa fue disuelta con la incorporación de 100 μL de dimetilsulfóxido (DMSO). La placa se dejó reposar por 30 minutos para que se desarrollara el color del MTT-formazan formado y luego se leyó a 570 nm en un espectrofotómetro de placa (BioRad, modelo Berchmark). Se calculó el porcentaje de citotoxicidad con respecto al control.

El MTT es un ensayo basado en el metabolismo celular y la habilidad de la enzima succinato deshidrogenasa mitocondrial es convertir el compuesto amarillo del MTT en un compuesto azul denominado formazán. La cantidad de azul formazán formado es proporcional al número de células metabólicamente activas (vivas) (Mosman, 1983).

ENSAYO DE LISIS ERITROCITARIA

Se evaluó la capacidad de la CQ y EAN, solos o combinados de inducir lisis de glóbulos rojos como marcador de toxicidad sanguínea (Mehta y col., 1984). La lisis de los eritrocitos por extractos de plantas o compuestos se considera un protocolo estándar para evaluar la toxicidad *in vitro* de nuevas sustancias y se determina por medio de la medición de la hemoglobina liberada a 550nm. Brevemente, la muestra de sangre de ratón heparinizada se centrifugó a 800 rpm durante 10 minutos, se descartó el sobrenadante y el paquete eritrocitario se lavó tres veces con solución salina (800 rpm por 5 minutos), finalmente se obtuvo una suspensión de glóbulos rojos al 100%. A partir de esta suspensión se tomó una suspensión de eritrocitos (2%) y se incubó a las concentraciones de los compuestos a ensayar (0,1, 1 y 10mM) a 37°C por 45 minutos.

La liberación de la hemoglobina por lisis hipotónica de un número igual de glóbulos rojos con 20% de agua se tomó como 100% control positivo de lisis mientras que los glóbulos rojos tratados con solución salina sirvieron como control negativo. Los resultados fueron expresados como porcentaje de hemólisis de cada concentración de los compuestos ensayados.

La actividad hemolítica fue evaluada utilizando los siguientes rangos: 0%-9% = No tóxico; 10 % - 49%= levemente tóxico; 50 - 89%= Tóxico y 90 % a 100%= altamente tóxico.

Análisis Estadístico

Los resultados obtenidos fueron expresados como la media \pm error estándar de la media (E.E.M), y analizados mediante

la Prueba t de *Student* de datos no apareada, seguida de un análisis de varianza (ANOVA) de una vía. Se consideraron las diferencias estadísticamente significativas para un valor de $p \leq 0,05$. Los datos fueron analizados y graficados mediante el programa GraphPad Prism versión 9.0 y el programa Excel 2010.

Resultados

Parámetros Toxicológicos

DETERMINACIÓN DE AST, ALT y GGT

Para evaluar los efectos hepatotóxicos de los diferentes tratamientos incluidos en nuestro diseño experimental y especialmente el efecto de las combinaciones de CQ con EAN evaluamos los niveles de las enzimas marcadoras de daño hepático (AST, ALT y GGT) en el suero de los animales tratados. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla I.

La Tabla I muestra que la CQ20 produce un incremento significativo de los niveles de AST, ALT y GGT sérico, por lo que es evidente la afectación del tejido hepático durante el tratamiento con este fármaco. EAN solo no alteró los niveles de las enzimas evaluadas. Sin embargo, al combinarla con CQ en las combinaciones de CQ20+ EAN10 y CQ20 +EAN20, redujo los niveles de ALT, AST y GGT en ratones tratados, si se compara con los niveles observados inducidos por la CQ20.

ENSAYO DE CITOTOXICIDAD POR EL MÉTODO MTT

Los sistemas *in vitro*, tanto de células animales como vegetales, son descritos como cultivos primarios o cultivos de líneas celulares, representan una herramienta de

Tabla I.
Niveles de ALT, AST y GGT sérica de ratones sanos tratados con las combinaciones de CQ con EAN

Tratamientos	ALT (U/l) ± E.E.M.	AST (U/l) ± E.E.M.	GGT(U/l) ± E.E.M.
Control Sano	103,50 ± 0,43	40,10 ± 0,23	78,97 ± 0,25
CQ20	182,14 ± 0,15**	77,40 ± 0,69**	130,44 ± 1,15**
EAN10	108,40 ± 0,23	38,15 ± 0,23	79,40 ± 0,35
EAN20	118,20 ± 0,13	42,15 ± 0,65	82,35 ± 0,76
CQ20+EAN10	143 ± 0,32**	43,40 ± 0,15**	114,50 ± 0,55**
CQ20+EAN20	154 ± 0,15**	54,30 ± 0,28**	117,43 ± 0,10**

Los resultados se expresan como la media ± E.E.M, **p<0,05, ***p<0,001 comparado con el control sano. CQ20=Cloroquina20 mg/Kg, EAN20=Extracto acuoso Neem 20mg/Kg, EAN10=Extracto acuoso Neem 10mg/Kg

estudio de diversos mecanismos celulares y la acción de distintos xenobióticos sobre su función, en un período corto. Además, es justificado su uso por el creciente interés de la comunidad científica en reducir el uso de animales de experimentación.

En este estudio se determinó la citotoxicidad de la CQ combinada con EAN. Los resultados sugieren que todos los compuestos produjeron una reducción de la viabilidad celular de manera dependiente de la concentración, especialmente la CQ (Figura 1).

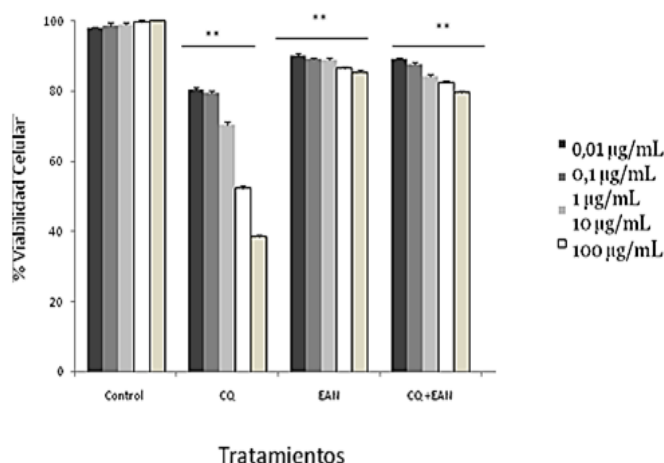


Figura 1. Efectos de las diferentes concentraciones de CQ, EAN y CQ+EAN sobre la viabilidad celular en células Vero. Los resultados expresan el porcentaje promedio ± E.E.M, **p<0,05 comparado con el control

Cuando se trató con la CQ en forma combinada con EAN (100µg/mL) se observa una tendencia del EAN a revertir el efecto tóxico de la CQ (Figura 1). De igual forma los valores obtenidos de CT₅₀ para la combinación indican que los mismos se incrementan, sugiriendo una reducción de la toxicidad intrínseca de los compuestos (Tabla II).

Los resultados sugieren que las células Vero son susceptibles a estos compuestos, particularmente la CQ a concentraciones de 10 y 100 µg/mL y sus combinaciones, con respecto al control p<0,05 (Figura 1). Sin embargo, EAN tiende a revertir la citotoxicidad generada por la CQ.

DETERMINACIÓN DE LA DOSIS LETAL MEDIA (DL₅₀) Y SINTOMATOLOGÍA

En la Tabla III se muestran los resultados obtenidos después del ensayo de la determinación de la DL₅₀ en el que se inyectó a ratones macho con peso entre 18-20g, por vía i.p un volumen de 0,1 mL diluciones seriadas de CQ: CQ (1600, 800, 400, 200 y 100 mg/Kg); EAN (400, 200, 100, 50 y 20 mg/Kg) y CQ/EAN (1600/400; 800/200; 400/100; 200/50 y 100/20 mg/

Tabla II.

Citotoxicidad cincuenta (CT_{50}) de los compuestos CQ, EAN y la combinación CQ+EAN en células Vero

Compuestos	CT_{50}
CQ	2,43
EAN	5,60
CQ + EAN	4,15

CT_{50} determinada mediante el Programa GraphPadPrisma9.0

Tabla III.

Determinación de la dosis letal media (DL_{50})

Compuestos	DL_{50} (mg/Kg)	Referencias
EAN	390 mg/Kg i.p. (ratones) 450,32 mg/Kg (i.p.) ratones	United States patent 4515785. (Akin-Osanaiya y col., 2013) Presente ensayo
CQ	302,80 mg/Kg (i.p.) 330 mg/Kg (i.p.)	Presente ensayo Lewis R. Sax's dangerous properties of Industrial materials. 11 th 2004.
CQ/EAN	480,24 mg/Kg (i.p.)	Presente ensayo

Kg). Los animales del grupo control fueron inyectados con solución fisiológica (NaCl 0,9%). Los resultados fueron comparados con lo reportado en la literatura.

Utilizando el Método de Campbell y Ritcher (1967), el cual da prioridad a efectos neurotóxicos, se observó la siguiente sintomatología (Tablas IV y V).

Al observar la sintomatología, se puede inferir que CQ sola ejerce una acción tóxica (Tabla IV). El EAN presenta neurotoxicidad

a concentraciones mayores de 200 mg/Kg, esto coincide con la DL_{50} reportada en este ensayo que es de 450,32 mg/Kg (i.p) (Tabla III). Sin embargo, llama la atención que cuando se combinan ambos compuestos, la presencia del EAN produce la desaparición de los síntomas: midriasis, respiración acelerada, actividad exploratoria, estereotipia y sedación a concentraciones menores a 400/ 100 mg/Kg (Tabla V).

ENSAYO DE HEMÓLISIS *IN VITRO*

Para determinar el potencial hematotóxico de los compuestos se realizó el ensayo de lisis eritrocitaria *in vitro*, a tres concentraciones (0,1; 1 y 10 μ g/mL) (Figura 2).

Los resultados muestran que el EAN y la combinación EAN + CQ producen un porcentaje de hemólisis de 11,11 y 28,7, respectivamente, a la concentración de 10 μ g/mL, siendo estos inferiores a la actividad hemolítica de la CQ (31,17%), reflejando que el EAN disminuye la lisis eritrocitaria inducida por la CQ cuando es ensayada de forma individual.

Cabe destacar que todos los compuestos ensayados solos o combinados producen un porcentaje de hemólisis menor a 50%, lo que indica que todos los compuestos producen una lisis eritrocitaria discreta.

Discusión

Las terapias combinadas consisten en mejorar el efecto terapéutico y restablecer las alteraciones producidas por el uso de fármacos, como una estrategia de combinar diferentes tratamientos para lograr mejores

Tabla IV.
Sintomatología observada en ratones de la cepa INH tratados con CQ y EAN

Sintomatologías	Dosis (i.p.)								
	CQ (mg/Kg)					EAN (mg/Kg)			
	1600	800	400	200	100	400	200	100	50
Movilidad Reducida	+	+	+	+	-	+	+	-	-
Piloerección	+	+	+	+	-	+	+	-	-
Midriasis	+	+	-	-	-	+	+	-	-
Respiración acelerada	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Actividad Exploratoria	+	+	+	+	-	+	+	-	-
Estereotipia	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Incoordinación motora	+	-	-	-	-	+	+	-	-
Parálisis espática	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Ptosisparpebral	+	-	-	-	-	+	+	-	-
Sedación	+	+	+	-	-	+	+	-	-

(+) Presente; (-) ausente

Tabla V.
Sintomatología observada en ratones de cepa INH tratados con las combinaciones de CQ con EAN

Sintomatologías	Dosis (i.p.)				
	CQ / EAN (mg/Kg)				
	1600/400	800/200	400/100	200/50	100/20
Movilidad Reducida	+	+	+	-	-
Piloerección	+	+	+	-	-
Midriasis	+	+	-	-	-
Respiración acelerada	+	+	+	-	-
Actividad Exploratoria	+	+	+	-	-
Estereotipia	+	+	+	-	-
Incoordinación motora	+	+	-	-	-
Parálisis espática	+	+	-	-	-
Ptosisparpebral	+	+	-	-	-
Sedación	+	+	-	-	-

(+) Presente; (-) ausente

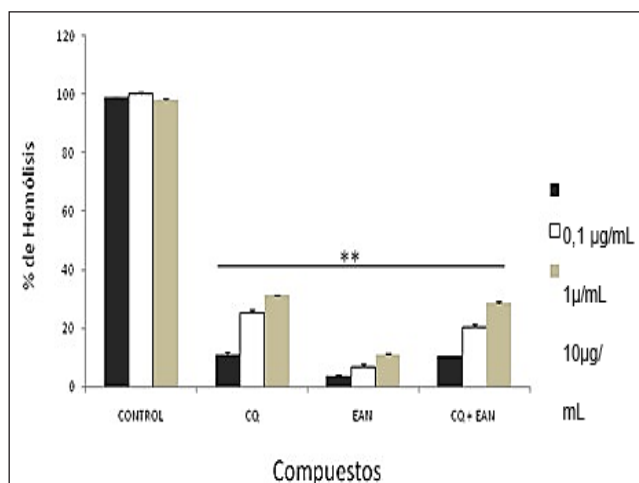


Figura 2. Porcentaje de hemólisis a diferentes concentraciones de CQ, EAN y CQ+EAN. CQ=Cloroquina; EAN=Extracto Acuoso Neem. Los resultados expresan el porcentaje promedio \pm E.E.M, $p < 0,05$ comparado con el control

resultados y compensar los efectos secundarios de los medicamentos. En otras palabras, las terapias combinadas buscan optimizar la eficacia de un tratamiento al complementar o reforzar la acción de un fármaco con otros abordajes, y al mismo tiempo, mitigar o revertir las alteraciones que el uso de fármacos puede generar en el organismo. En el presente estudio se evaluó el efecto tóxico o adverso del tratamiento con CQ en ratones y la combinación con EAN.

Con el fin de evaluar los posibles efectos hepatotóxicos, hemotóxicos y nefrotóxicos, se estudió el uso del extracto acuoso de *Azadirachta indica* A. Juss (EAN) como coadyuvante para reducir la toxicidad generada por el tratamiento con CQ, mediante la determinación de marcadores específicos de toxicidad. Como marcadoras de daño hepático se determinó las enzimas (ALT; AST y GGT).

Nuestros hallazgos muestran que la CQ20 ocasiona elevación de las transaminasas y GGT en ratones. Sin embargo, los

compuestos solos y/o combinados produjeron disminución de estos niveles, principalmente, las combinaciones CQ20+EAN20 y CQ10+EAN10 en los ratones, durante 5 días de tratamiento, restaurando las anomalías bioquímicas presentadas. Estos resultados están en línea con lo reportado sobre la reducción de parámetros renales como urea, creatinina y ácido úrico, estableciendo de esta manera una integridad hepato-renal (Anigboro, 2018; Adetutu y col., 2016). Adicionalmente, el EAN actúa tanto como hepatoprotector al disminuir los niveles de ALT, AST, fosfatasa alcalina y bilirrubina, así como, hipolipemiente al disminuir el colesterol, en ratones infectados con *Plasmodium berghei*, por lo que podría ser usado como tratamiento para la hepatotoxicidad generada, además de ser utilizado como antioxidante y en enfermedades cardiovasculares (Igwenyi y col., 2017).

Al evaluar la citotoxicidad de la CQ, EAN y las combinaciones CQ+EAN, se observó que todos los compuestos presentaron una reducción del porcentaje de supervivencia celular de células Vero, de manera dependiente de la concentración. Sin embargo, cuando se trató la CQ de forma individual a una concentración de $100\mu\text{g/mL}$, se observó un aumento de la citotoxicidad, condición que mejoró cuando se combinó esta dosis de CQ con EAN a $100\mu\text{g/mL}$, aumentando el porcentaje de supervivencia celular, lo que sugiere que el EAN revierte el efecto citotóxico de la CQ. La CT_{50} evaluadas, se incrementan con las combinaciones, indicando que el EAN reduce la toxicidad intrínseca de la CQ. Efectos similares se reportan en estudios realizados en células de cáncer de pulmón (A549) y en células Vero tratadas con extracto etanólico y acuoso de hojas de la planta Neem a $500\mu\text{g/mL}$,

respectivamente, a través de MTT (Azhagu, 2021; Sanpinit y col., 2023). Esto sugiere que el EAN actúa como anticancerígeno en cáncer de próstata, de mama y de colon (Ibrahim y col., 2022) y como un promisorio nefroprotector (Gupta y col., 2019).

Otro ensayo utilizado como parámetro toxicológico es el ensayo hemolítico, el cual es fácil de realizar (Crupi y col., 2019). Los eritrocitos son las principales células en circulación y se encargan de transportar oxígeno; de hecho, cualquier alteración de este proceso podría ser letal. La membrana plasmática de los glóbulos rojos es una estructura multicomponente que confiere a estas células su forma bicóncava característica, su alta flexibilidad, elasticidad y deformabilidad. Sin embargo, existen claros signos de sufrimiento celular si se produce alguna alteración en esta estructura. Las pruebas de citotoxicidad *in vitro*, realizadas en glóbulos rojos, se utilizan con frecuencia para detectar y determinar la toxicidad de diversos xenobióticos y compuestos. Por lo tanto, los eritrocitos podrían servir como célula modelo para estudiar los mecanismos celulares y moleculares de muchos tratamientos (Pagano y col., 2015).

Los investigadores se centran en estas células debido a tres aspectos importantes: 1) Las propiedades mecánicas de los glóbulos rojos gobiernan el comportamiento reológico macroscópico de la sangre humana; 2) Determinadas enfermedades se asocian con cambios esenciales en las características mecánicas de las células y 3) La hemólisis, que se caracteriza por daño celular y fuga de hemoglobina debido a factores externos que incluyen carga mecánica, cambios en el equilibrio ácido/base y presión osmótica a xenobióticos, siendo un factor limitante para una terapia

farmacológica exitosa. La facilidad con la que se pueden aislar y manipular los glóbulos rojos hace que estas células sean un buen modelo para muchos ensayos y propósitos biológicos (Podsiedlik y col., 2020). Además, la membrana de los eritrocitos se considera un valioso modelo de membrana biológica porque contiene una gran cantidad de ácidos grasos poliinsaturados. Aunado a que la presencia de hemoglobina y numerosos sistemas antioxidantes los convierte en un estándar adecuado para probar las condiciones de estrés oxidativo inducidas por xenobióticos (Pagano y col., 2015).

Al respecto, nuestros hallazgos indican que todos los tratamientos ensayados producen un porcentaje de hemólisis menor a 50%, especialmente, las combinaciones de CQ+EAN, sugiriendo que el EAN disminuye la hemotoxicidad discreta ocasionada por la CQ (31,17%). Esto concuerda con lo reportado en la literatura (Acosta y col., 2022). El porcentaje de hemólisis de las combinaciones estudiadas no han sido reportadas hasta el presente. Por lo tanto, estos datos representan un parámetro de toxicidad relevante.

En relación con la determinación de la DL_{50} de los compuestos ensayados vía i.p., se obtuvo los siguientes valores: CQ= 302,80mg/Kg; EAN = 450,32 mg/Kg y CQ + EAN= 480,24 mg/Kg. La CQ mostró una DL_{50} similar a la reportada en la literatura (Lewis, 2004.) y la DL_{50} del EAN en este ensayo fue mayor con respecto a la declarada (Akin-Osanaiya y col., 2013). La determinación de la DL_{50} de la combinación fue superior, en efecto 480,24mg/Kg, lo que sugiere que el EAN disminuye la toxicidad intrínseca de la CQ administrada de forma individual. La DL_{50} de la combinación estudiada y la sintomatología no ha sido reportada

hasta el presente. Por lo tanto, este dato nos permite definir si los compuestos combinados presentan mayores efectos tóxicos en relación a su forma individual.

En cuanto a los síntomas presentados por los animales tratados con las dosis seriadas de CQ sola o combinada con EAN en estudio, se observó que existe una relación entre la dosis y la aparición de los diversos síntomas. Los ratones tratados con CQ a las distintas dosis ensayadas presentan síntomas comunes, desde el punto de vista neurológico, caracterizados por movilidad reducida, aumento de la actividad exploratoria y sedación. Así como también aumento de la respiración acelerada. Por su parte, el EAN, produce respiración acelerada, estereotipia y aumento de la actividad exploratoria a 200 mg/Kg, efectos que se correlacionan con el estudio de la actividad depresora del SNC por parte del EAN, además de su propiedad ansiolítica (Ucheya y col., 2011).

Los síntomas reportados que caracterizan los efectos tóxicos de las combinaciones no han sido reportados hasta el presente en la literatura. Los resultados que establecen el posible efecto protector del EAN son descriptivos observacionales, por lo que no permite realizar inferencias de acuerdo al mecanismo de toxicidad de los compuestos.

Este estudio preliminar, representa una alternativa que debe ser profundizada con la finalidad contribuir a la prolongación de la vida útil de los recursos farmacoterapéuticos disponibles, retardar la expansión de la resistencia, y/o reducir la toxicidad generada por los mismos.

Conclusiones

Los resultados obtenidos nos permiten formular las siguientes conclusiones:

1. Los tratamientos CQ20+EAN20 y CQ20 + EAN 10 mostraron tendencia a restaurar las alteraciones bioquímicas presentadas, como el aumento de los niveles de ALT, AST y GGT inducidas por CQ.
2. Los compuestos CQ y EAN solos, produjeron disminución del porcentaje de supervivencia de las células Vero, de manera concentración dependiente, siendo mayor con la CQ. Sin embargo, cuando se combina CQ con EAN, disminuyó la citotoxicidad, reflejada por un aumento de los niveles de CT_{50} obtenidos cuando se combinan, sugiriendo, que el EAN disminuye la citotoxicidad inducida por los fármacos antimaláricos.
3. El valor de la DL_{50} obtenido de la combinación de CQ con EAN aumentó en relación a las obtenidas de manera individual, lo que indica, que el EAN disminuye la toxicidad de la CQ.
4. Los compuestos CQ y EAN solos y combinados, produjeron un aumento discreto del porcentaje de hemólisis (<50%), lo que indica que no son hemotóxicos.
5. La sintomatología de los animales tratados con CQ son similares a los reportados en la literatura. Sin embargo, las combinaciones con EAN, a dosis equivalentes, mostraron desaparición de los síntomas neurológicos.

El diseño experimental utilizado en esta investigación permitió realizar un balance riesgo-beneficio de la CQ20 de forma individual combinada con EAN 20 y EAN10.

Agradecimientos

Agradecemos al Ministerio de Ciencia y Tecnología (MINCYT) por el financiamiento del Proyecto 2024PGP117.

Conflicto de interés

Los autores declaran que no existe conflicto de interés.

Referencias Bibliográficas

- Acosta ME, Gamboa de Domínguez N. 2017. Potenciación del efecto antimalárico de combinaciones de cloroquina y mefloquina con acetaminofeno *in vivo* y niveles de glutatión total hepático. *Revista de La Facultad de Farmacia* 80 (1 y 2): 68-82.
- Acosta ME, Gotopo L, Gamboa N, Rodrigues JR, Henriques GC, Cabrera G, Romero AH. 2022. Antimalarial activity of highly coordinative fused heterocycles targeting β -hematin crystallization. *ACS Omega* 7(9):7499-7514.
- Adetutu A, Olubukola O, Abiodun O, Taiwo B. 2016. Antiplasmodial and Hepatoprotective Potentials of Certain Traditional Antimalarial Remedies Used in Nigeria. *Nature and Science* 14(9):76-86.
- Akin-Osanaiya BC, Nok AJ, Ibrahim S, Inuwa HM, Onyike E, Amlabu E, Haruna E. 2013. Antimalarial effect of neem leaf and neem stem bark extracts on *Plasmodium berghei* infected in the pathology and treatment of malaria. *International Journal of Research in Biochemistry and Biophysics* 3(1):7-14.
- Alam A, Haldar S, Thulasiram HV, Kumar R, Goyal M, Iqbal S, Bandyopadhyay U. 2012. Novel anti-inflammatory activity of epoxy azadiradione against macrophage migration inhibitory factor: Inhibition of tautomerase and proinflammatory activities of macrophage migration inhibitory factor. *Journal of Biological Chemistry* 287(29):24844-24861.
- Alzohairy M. 2016. Therapeutics role of *Azadirachta indica* (neem) and their active constituents in diseases prevention and treatment. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* 7382506-06.
- Anigboro AA. 2018. Synergistic Trial Model of Four Coadministration of Medicinal Herbs on Malaria infected Mice. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management* 22(7):1135-1140.
- Azhagu Madhavan S. 2021. Phytochemical Analysis and Anticancer Activity of *Azadirachta indica* Ethanolic Extract against A549 human lung cancer. *Cell Line* 2766:2276.
- Biswas K, Chattopadhyay I, Banerjee RK, Bandyopadhyay U. 2002. Biological activities and medicinal properties of neem (*Azadirachta indica*). *Current Science* 1336-1345.
- Campbell D, Richter W. 1967. An observational method estimating toxicity and drug actions in mice applied to 68 reference drugs. *Acta Pharmacol et Toxicol* 25: 345-363.
- Crupi R, Morabito R, Remigante A, Gugliandolo E, Britti D, Cuzzocrea S, Marino A. 2019. Susceptibility of erythrocytes from different sources to xenobiotics-induced lysis. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 221, 68-72.
- Das SP, Dixit S, Sahoo S. 2017. Phytochemical and biochemical characterizations from leaf extracts from *Azadirachta indica*: An important medicinal plant. *Biochemistry & Analytical Biochemistry* 6: 323.
- Deshpande PK, Gothwal R, Pathak AK. 2014. Phytochemical analysis and evaluation of antimalarial activity of *Azadirachta indica*. *The Pharma Innovation* 3(9, Part A), 12.
- Dkhil MA, Al-Quraishy S, Al-Shaebi EM, Abdel-Gaber R, Thagfan FA, Qasem MA. 2021. Medicinal plants as a fight against murine blood-stage malaria. *Saudi Journal of Biological Sciences* 28(3):1723-1738.
- Gupta A, Ansari S, Gupta S, Narwani M, Gupta M, Singh M. 2019. Therapeutics role of Neem and its bioactive constituents in disease prevention and treatment. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 8(3):680-691.
- Habluetzel A, Pinto B, Tapanelli S, Nkouangang J, Saviozzi M, Chianese G, Bruschi F. 2019. Effects of *Azadirachta indica* seed kernel extracts on early erythrocytic schizogony of *Plasmodium berghei* and pro-inflammatory response in inbred mice. *Malaria Journal* 18:1-9.

- Hamilton MA, Russo RC, Thurston RV. 1977. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environmental Science & Technology* 11(7):714-719.
- Ibrahim OH, Mousa MA, Asiry KA, Alhakamy NA, Abo-Elyousr KA. 2022. *Azadirachta indica* A. juss fruit mesocarp and epicarp extracts induce antimicrobial and antiproliferative effects against prostate (PC-3), Breast (MCF-7), and colorectal adenocarcinoma (Caco-2) cancer cell lines through upregulation of proapoptotic genes. *Plants* 11(15):1990.
- Iwalewa EO, Mohammed K, Omotola OO. 1999. Contributor Pharmacological Effects of *Azadirachta indica* leaf in the treatment of malaria. *Nigerian Journal of Natural Products and Medicine* 3:42-46.
- Islas JF, Acosta E, Zuca G, Delgado-Gallegos JL, Moreno-Treviño MG, Escalante B, Moreno-Cuevas JE. 2020. An overview of Neem (*Azadirachta indica*) and its potential impact on health. *Journal of Functional Foods* 74:104171.
- Igwenyi I, Eze A, Aja P, Elom S, Uraku A, Awoke J, Obasi NA. 2017. Cholesterol-lowering and hepatoprotective effect of fruit juice extract of *Azadirachta indica* on *Plasmodium berghei*-infected mice. *Int J Curr Microbiol App Sci* 6(9), 3367-3375.
- Kumar VS, Navaratnam V. 2013. Neem (*Azadirachta indica*): Prehistory to contemporary medicinal uses to humankind. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 3(7):505-514.
- Latif MJ, Hassan SM, Mughal SS, Aslam A, Munir M, Shabbir N, Mushtaq M, Pervez S. 2020. Therapeutic potential of *Azadirachta indica* (neem) and their active phytoconstituents against diseases prevention. *J Chem Chem Sci* 10(3):98-110.
- Rolim Baby A, Batello Freire T, Arrollo Marques G, Rijo P, Vieira Lima F, Monteiro de Carvalho JC, Rojas J, Vidal Magalhães W, Robles Velasco MV, Morocho-Jácome AL. 2022. *Azadirachta indica* (Neem) as a potential natural active for dermocosmetic and topical products: A narrative review. *Cosmetics* 9(3):58.



Información sobre el Suministro y Estandarización de Medicamentos para el Tratamiento de Influenza y COVID-19 En Ecuador

Information on the Supply and Standardization of Medicines for the Treatment of Influenza and COVID-19 in Ecuador

JHON E. LANDETA MALDONADO

Resumen

El presente artículo tiene como objetivo conocer si los estudiantes de la facultad de Ciencias Químicas de la especialidad de Farmacia poseen conocimiento sobre el suministro y estandarización de medicamentos para el tratamiento de la influenza y COVID-19 en Ecuador según la normativa vigente. La metodología empleada es de tipo cuantitativa, se usó un instrumento de recolección de datos de tipo cuestionario vía online, mediante Google Forms, el cual se envió a las direcciones de correo electrónico de los estudiantes del quinto semestre de la Universidad de Cuenca de la Facultad de Farmacia, siendo un total de 400 participantes los que voluntariamente respondieron al referido medio de recogida de información. Los resultados fueron que los estudiantes en general no poseen conocimiento sobre los estándares internacionales adoptados para el tratamiento de este tipo de patologías provocadas por los virus de influenza y COVID-19, los cuales se han estandarizados en la mayor parte del mundo posterior a la pandemia acontecida desde el año 2020.

Palabras clave: Farmacia, medicamentos, instrumentos legales, COVID-19, Influenza

Abstract

The objective of this article is to determine whether students of the Faculty of Chemical Sciences specializing in Pharmacy possess knowledge about the supply and standardization of medicines for the treatment of influenza and COVID-19 in Ecuador in accordance with current regulations. The methodology employed was quantitative, using an online questionnaire data collection instrument via Google Forms, which was sent to the email addresses of fifth-semester students from the Faculty of Pharmacy at the University of Cuenca. A total of 400 participants voluntarily responded to this data collection method. The results showed that students, in general, lack knowledge about the international standards adopted for treating these types of pathologies caused by influenza and COVID-19 viruses, which have been standardized in most of the world following the pandemic that began in 2020.

Keywords: Pharmacy, medications, legal instruments, COVID-19, Influenza

Specialist Regulatory Affairs en Merck, Quito, Pichincha, Ecuador. Correspondencia: jhonlandetam@gmail.com

Orcid: [0009-0006-7243-466X](https://orcid.org/0009-0006-7243-466X)

DOI: [10.54305/RFFUCV.2025.88.1-2.9](https://doi.org/10.54305/RFFUCV.2025.88.1-2.9)

Disponible: http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_ff

Recepción: 20/05/2025

Aprobación: 21/05/2025

Rev. Fac. Farmacia 87(1): 87-97. 2025

Introducción

El inicio de una enfermedad a fines del año 2019 originó alertas mundiales al observar la repitencia e incidencia de esta afección en la gran cantidad de pacientes que se registraban en los países de Asia como China y otros circundantes, los cuales a la velocidad acelerada en la que se propagó logró convertirse de forma lamentable en una pandemia que dejó el saldo de muchos fallecidos a nivel mundial. De acuerdo con Wu y McGoogan (2019), en el mes de diciembre de 2019, se inició un brote de casos de una neumonía grave en la ciudad de Wuhan, provincia de Hubei, en China. Los estudios epidemiológicos iniciales mostraron que la enfermedad se expandía rápidamente, que se comportaba más agresivamente en adultos entre los 30 y 79 años, con una letalidad global del 2,3%. En este sentido, Guo y col. (2020) y Lu y col. (2020) indican que los estudios etiológicos iniciales dirigidos a los agentes comunes de la infección respiratoria aguda, incluyendo los agentes de la influenza aviar, del síndrome respiratorio agudo severo (SARS, del inglés, Severe Acute Respiratory Syndrome) y del síndrome respiratorio del Medio Oriente (MERS, del inglés, Middle East Respiratory Syndrome), arrojaron resultados negativos. El uso de métodos de secuenciación profunda, que no requieren información previa sobre el agente que se busca, así como el aislamiento en cultivo de células, seguido de microscopía electrónica demostraron que se trataba de un agente viral nuevo, perteneciente al grupo de los coronavirus, y fue inicialmente llamado 2019-nCoV (novel coronavirus de 2019), genéticamente relacionado, pero distinto al agente del SARS. Lo que sí es claro es que, los coronavirus, como el causante de la COVID-19, se propagan principalmente

a través del aire, específicamente mediante pequeñas gotas de líquido que se expulsan al toser o hablar. Estas gotas contienen el virus y pueden ser inhaladas por personas que estén cerca de quien está contagiado. Las infecciones respiratorias, incluyendo la COVID-19, se pueden transmitir a través de gotículas respiratorias (diámetro de 5 a 10 micrómetros) y núcleos goticulares (diámetro inferior a 5 micrómetros), según la Organización Mundial de la Salud (OMS).

Díaz y Toro (2020) establecen que el tiempo de incubación varía, pero suele durar entre 2 y 7 días, aunque en ocasiones puede llegar a ser hasta de 2 semanas, esto indica que el periodo ideal de cuarentena debería ser de, al menos, 14 semanas. Se han definido patrones matemáticos que presuponen que la emisión inicia entre 1 y 2 días previos a la transmisión cuando comienzan los síntomas, parece que la enfermedad impacta un poco más a las personas, la mayoría de los afectados son hombres que oscilan entre los 30 y los 79 años en el 87% de los individuos. Los casos de menor propensión a COVID-19 en los jóvenes, con índices de enfermedad más altos, del 1% en niños y jóvenes menores de 18 años.

Considerando que los síntomas y las condiciones físicas de cada uno de los pacientes es diversa, aun cuando existan elementos en los cuales haya puntos de coincidencia, existe la necesidad de atender a los sujetos infectados por virus como el COVID-19, que sigue siendo un elemento que afecta la salud mundial, aunque no en la misma medida que en el tiempo acaecido desde el 2019 hasta principios del 2022.

La relevancia de las acciones médicas radica en la terapia oportuna de atención de los primeros síntomas, acompañada

según la Organización Panamericana de la Salud (OPS)(2024) de un diagnóstico que se adecue a sus signos y síntomas. Es necesario un cuidado de urgencias en situaciones de complicaciones que podrían provocar la muerte. Se recomienda consultar con el doctor acerca de los síntomas y preguntar cómo puede gestionarlos en el hogar. Podría necesitar rehabilitación, cambios en su rutina diaria, o asistencia especializada para las complicaciones menos graves. Así mismo, se sugiere la consulta al médico sobre cómo puede mejorar su calidad de vida y recomendaciones para gestionar el cansancio o fatiga y para optimizar tareas cotidianas.

Actualmente, la comunidad médica y el personal sanitario se encuentran todavía adquiriendo conocimientos acerca de esta condición (COVID-19) y es posible que los tratamientos se modifiquen conforme se obtenga más datos. En este sentido, se considera lo expresado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (2022), que indica que el escenario más probable (caso base) es que el coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo tipo 2 (SARS-CoV-2) siga evolucionando. La gravedad de la enfermedad que provoca podría reducirse con el tiempo a medida que aumente la inmunidad debido a la inmunidad híbrida de la vacunación y la infección natural. Del mismo modo, pueden producirse picos periódicos de casos y muertes a medida que la inmunidad disminuye, lo que puede requerir un refuerzo periódico para las poblaciones de alto riesgo, potencialmente utilizando vacunas específicas dirigidas a las variantes en circulación. Estas consideraciones tendrán implicaciones para el futuro del programa de vacunación contra la COVID-19 en 2022 y más adelante.

De acuerdo con Sánchez (2024), existen numerosas vacunas desarrolladas y aprobadas para el SARS-CoV-2 ya han llegado a niveles considerablemente altos en varios países, mientras que en otros todavía resultan claramente insuficientes. A finales de abril de 2022, el porcentaje de vacunación a fondo se encuentra en más del 85% de la población en España. El 30 de marzo de 2023, la Agencia Europea del Medicamento (EMA) otorgó su aprobación a la vacuna española Hipra como dosis suplementaria. Varias versiones del virus han emergido y la OMS ha señalado con letras griegas las que son alarmantes: alfa, beta, gamma, delta y ómicron. En la actualidad, solo las dos últimas están en circulación.

Al respecto, la Universidad de California en San Francisco (2024) afirma que ciertos fármacos pueden prevenir que casos leves de COVID-19 se conviertan en casos graves que requieran hospitalización, siempre y cuando se administren temprano en la enfermedad. Para ser elegible para estos tratamientos, los síntomas deben haber aparecido en los últimos cinco días (para tratamientos orales) o siete días (para tratamientos intravenosos), deben ser leves a moderados, y la persona debe ser considerada de alto riesgo de enfermedad grave. No obstante, solo funcionan si se suministran en una etapa temprana de la enfermedad. Esto implica que la persona debería ponerse en contacto con su médico tan pronto como perciba cualquier indicio de COVID-19, tales como temperatura alta, tos, dolor en la garganta, cefalea, dolor muscular o sensación de incomodidad general.

Respecto al tratamiento endovenoso se debe emplear según la información

de la Universidad de California (ob. Cit.), Remdesivir (Veklury) es un medicamento intravenoso utilizado para tratar la COVID-19. Este medicamento fue desarrollado inicialmente para otros virus y es el primer medicamento aprobado por la FDA (*Food and Drug Administration*) para tratar la COVID-19. Funciona bloqueando la replicación del virus, lo que ayuda a reducir la gravedad de la enfermedad. Remdesivir generalmente se administra a pacientes con COVID-19 que se enferman lo suficiente como para ser hospitalizados, pero también está aprobado para su uso en pacientes de alto riesgo no hospitalizados con síntomas leves. En esos casos, Remdesivir se administra mediante perfusión intravenosa tras su dilución. No se debe administrar como inyección intramuscular (IM).

Por otra parte, la medicación vía oral consiste en medicamentos orales como Nirmatrelvir y Ritonavir (Paxlovid). La combinación de nirmatrelvir y ritonavir se usa para tratar la COVID-19 en adultos que presentan síntomas de leves a moderados y corren el riesgo de padecer una enfermedad grave que podría dar lugar a hospitalización o muerte. Esta combinación de medicamentos antivirales retarda la infección al interrumpir la capacidad del virus para replicarse en su cuerpo. Para la mayoría de los pacientes, el tratamiento consiste en tomar tres píldoras dos veces al día durante cinco días. Debe comenzar el tratamiento dentro de los cinco días posteriores al desarrollo de los síntomas de COVID-19. Este medicamento no es una opción si la persona además del COVID-19 tiene enfermedad renal avanzada o insuficiencia hepática. Con la función renal deteriorada, la dosis debe ser ajustada. Debido a que se sabe poco acerca de los efectos del medicamento sobre la fertilidad o el embarazo, debe consultar con su

médico si está embarazada, considerando el embarazo o la lactancia.

Nirmatrelvir y Ritonavir pueden interactuar con muchos medicamentos, incluidos inmunosupresores, anticoagulantes y medicamentos para reducir el colesterol, causando efectos secundarios graves. Es necesario consultar con el médico o farmacéutico si este tratamiento es seguro de tomar junto con sus otros medicamentos. También puede reducir la efectividad de las píldoras anticonceptivas, por lo que, si se está tomando anticonceptivos orales, deberá utilizar temporalmente un método alternativo.

En el año 2022, la Organización Mundial de Salud (OMS) recomendó fuertemente el uso del primer fármaco que viene en pastillas, el antiviral Paxlovid, autorizado para pacientes con COVID-19 que pueden sufrir casos graves. Se trata del medicamento desarrollado por la empresa Pfizer que contiene dos antivirales: el nirmatrelvir y el ritonavir. Al contener al antiviral nirmatrelvir, el fármaco inhibe una proteína del coronavirus que impide la replicación del virus. Además, con el ritonavir, ralentiza la descomposición del nirmatrelvir para ayudar a que permanezca en el organismo durante más tiempo en concentraciones más altas. Está aconsejado para personas que aún no se vacunaron, que son mayores de 60 años o que están inmunocomprometidas. En base a los ensayos clínicos publicado en el *British Journal of Medicine*, en los que se evaluaron la eficacia y la seguridad, el Paxlovid tendría mejores beneficios en pacientes que aún no se han vacunado contra el COVID-19 y con alto riesgo de desarrollar enfermedad grave. En ese grupo, con una potencial falla de la respuesta del sistema inmune, la medicación reduce el riesgo de hospitalización. No obstante, la OMS señaló

que le preocupa enormemente que, como ocurrió con las vacunas COVID-19, los países de ingresos bajos y medios vuelvan a quedar relegados al final de la cola a la hora de acceder a este tratamiento.

En el caso de Ecuador, existen conductas específicas y claras que delimitan la utilización de fármacos, los cuales deben ser supervisados por el Ministerio de Salud del país y la Agencia de regulación del área, la cual se denomina Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARCSA) y se norma el uso y distribución de estos según el Cuadro Nacional de Medicamentos Básicos (CNMB), por tanto según Ramos y Modesto (2021), las farmacias son una clase de oficina farmacéutica, cuya propiedad es de un experto en química farmacéutica y, simultáneamente, es administrada por él. En este tipo de establecimiento se lleva a cabo la distribución, dispensación, almacenaje y cuidado farmacéutico de fármacos para el público en general.

Considerando los aspectos legales prescritos por el Congreso Nacional de Ecuador (2000) la autorización para la compra de fármacos que no figuran en el Cuadro Nacional de Medicamentos Básicos (CNMB) en vigor, será responsabilidad de cada entidad sanitaria de la Red. De manera que la Red Pública Integral de Salud - RPIS, será responsable de acuerdo con las regulaciones que la Autoridad Sanitaria Nacional emita para tal fin.

Por tanto, en el tratamiento de enfermedades como la COVID-19 y la influenza el uso de medicamentos regulatorios de la alergia y retrovirales ha sido clave para la mejora de los síntomas, es así como según la Sociedad Ecuatoriana de Alergia, Asma e Inmunología (SEAAI)

(2022) fármacos como Nirmatrelvir y Ritonavir se han importado de Panamá con un cargamento inaugural de 15.000 cursos de tratamiento de la combinación antiviral Nirmatrelvir/Ritonavir (Paxlovid, Pfizer), sobre un total de 25.000 acordados. El país centroamericano es una vanguardia o excepción regional. Aunque tiene una elevada eficacia en la prevención de hospitalizaciones y muertes por COVID-19 en pacientes vulnerables con enfermedad leve a moderada, solo unos pocos países de Latinoamérica han aprobado el fármaco y el acceso es muy limitado o prácticamente inexistente aun en aquellos que lo hicieron, siendo el alto precio, la mayor cobertura de vacunación y la baja percepción de utilidad frente al curso más benigno de ómicron algunos de los factores que contribuyen a esa situación.

Entorno a la influenza o gripe, existen criterios similares a los de cualquier enfermedad viral, los cuales prescriben el uso de antipiréticos, antihistamínicos, así como algún tipo de suplemento vitamínico para potenciar después del tratamiento con antibióticos, si existe alguna afección que involucre la alteración de los exámenes hematológicos, puntualmente los glóbulos blancos, lo que refiere que exista algún tipo de infección.

De acuerdo con el portal científico Mayo Clinic (2024), las pruebas de diagnóstico de la COVID-19 muestran infecciones actuales con el virus que causa la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19). Dentro de las pruebas moleculares la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) es cada vez más común en muchos hospitales y laboratorios. La técnica de laboratorio usada se denomina reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa. Esta

prueba puede hacerse en el consultorio del médico o en el hospital. La prueba de reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa denominada ensayo multiplex para virus de influenza y SARS-CoV-2 puede mostrar cualquiera de los tres virus al mismo tiempo: el virus de la COVID-19, el de la influenza A y el de la influenza B, en una sola muestra.

Una de las principales medidas preventivas de contagios por el virus de influenza es, al igual que en el caso del COVID-19, la inmunización. En tal sentido, de acuerdo con el Instituto de los Seguros Sociales de México (2021); 1. No existe evidencia de que la vacuna contra influenza estacional tenga utilidad en el caso de la infección por el nuevo virus influenza A (H1N1) de esta epidemia; 2. Para la nueva vacuna contra influenza (H1N1), las Autoridades del Sector Salud de cada nación definirán los grupos prioritarios de la población y los criterios para su aplicación, conforme a sus normas y leyes; 3. Se recomienda informar a las personas sobre los posibles efectos adversos que pueden ocurrir después de la vacunación contra influenza (H1N1); 4. Se recomienda efectuar la vigilancia de los posibles efectos adversos por vacunación para su identificación en forma temprana y establecer acciones necesarias para su corrección, conforme a los lineamientos institucionales y sectoriales de cada país.

Respecto al tratamiento de la influenza o gripe, la cual muchas veces no es tratada dentro del contexto de un rigor médico o de una prescripción facultativa existen también medidas como indica Mayo Clinic (ob. Cit.). El uso de medicamentos antivirales para tratar la gripe. Entre ellos se encuentran, el Oseltamivir (Tamiflu), el baloxavir (Xofluza) y el zanamivir (Relenza) que son medicamentos antivirales utilizados para

tratar y, en algunos casos, prevenir la influenza (gripe). El Oseltamivir y el zanamivir son inhibidores de la neuraminidasa, mientras que baloxavir es un inhibidor de la polimerasa viral. El oseltamivir y el baloxavir se administran por vía oral, mientras que el zanamivir se inhala a través de un dispositivo similar a un inhalador para el asma. Al zanamivir no debe ser usado por ninguna persona que tenga determinados problemas respiratorios crónicos, como asma y enfermedades pulmonares. A las personas hospitalizadas se les puede indicar peramivir (Rapivab), que se administra por vía intravenosa. Estos medicamentos pueden reducir la duración de la enfermedad en un día y ayudar a prevenir complicaciones graves. En este orden, también es necesario considerar la existencia de efectos subsiguientes de los medicamentos antivirales pueden ser náuseas y vómitos. Estos efectos secundarios pueden disminuir si el medicamento se toma con alimentos.

Por lo antes dicho, y pese a que la Organización Mundial de la Salud proclamó oficialmente el 5 de mayo de 2023 el fin de la pandemia, la realidad es que la enfermedad producida por el virus del COVID-19 así como la influenza ha seguido manifestándose en muchos pacientes en todo el mundo, lo que también incluye a Ecuador. Así que, la declaración que la COVID-19 ya no constituye una emergencia de salud pública de importancia internacional implica que es el momento que los países pasen del modo de emergencia al manejo y control de la COVID-19 con otras enfermedades infecciosas como la influenza. La COVID-19 no ha terminado. El riesgo continúa. Por esa razón, los países, ni sus sistemas de salud, al igual que sus poblaciones, pueden bajar la guardia.

Por su relevancia, este estudio tiene el objetivo conocer si los estudiantes de la facultad de Ciencias Químicas de la especialidad de Farmacia poseen conocimiento sobre el suministro y estandarización de medicamentos para el tratamiento de influenza y COVID-19 en Ecuador según la normativa vigente.

Metodología

La investigación se enfocó en el paradigma cuantitativo, siendo un diseño de campo, con una investigación de tipo descriptiva. La población participante fue de cuatrocientos estudiantes, los cuales cursan el quinto semestre de la especialidad de Farmacia en la Universidad de Cuenca, Provincia del Azuay en Ecuador.

La población y muestra estudiantil fueron 250 estudiantes del turno de la tarde y 150 de la mañana, pertenecientes a la especialidad de Farmacia de la Facultad de Ciencias Químicas en Universidad de Cuenca, Provincia del Azuay ubicada en Ecuador (Tabla 1).

Tabla I.
Población y muestra participante

Turno	Cantidad
Mañana	150
Tarde	250
Total	400

La investigación se fundamentó en la hipótesis de que los estudiantes de Farmacia no poseen información sobre la medicación requerida por los pacientes que padecen las enfermedades originadas por los virus de COVID-19 e Influenza. El diagnóstico se realizó en el mes de octubre

de 2024 en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Cuenca, Ecuador.

Se consideraron dos grupos de estudiantes, de los dos turnos de la especialidad de Farmacología. Se llevó a cabo una encuesta a los educandos de la especialidad de Farmacia, del quinto semestre que estudian la materia Farmacología I, en la Universidad de Cuenca, la cual según el sitio web oficial de la referida casa de estudio prepara egresados en Farmacia con la capacidad de combinar el estudio de la bioquímica, el análisis biológico y la aplicación práctica de la farmacología. Las y los estudiantes aprenden sobre la composición de los seres vivos, el funcionamiento de los sistemas biológicos, la síntesis y el diseño de fármacos para tratar enfermedades. Esto les permite participar activamente en el equipo de salud del Sistema Nacional de Salud (SNS) y en la industria alimentaria (Universidad de Cuenca, 2024)

Resultados

A continuación, se muestran los resultados obtenidos de las preguntas presentadas en la encuesta realizada a 400 educandos de la especialidad de Farmacia, del quinto semestre que estudian la materia Farmacología I de la Universidad de Cuenca y se presentan como porcentaje del total (Gráficos 1 al 5).

Discusión y Conclusión

El objetivo del presente estudio fue conocer si los estudiantes de la Facultad de Ciencias Químicas de la especialidad de Farmacia poseen conocimiento sobre el

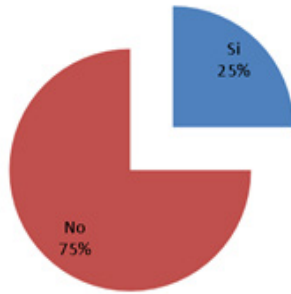


Gráfico 1. Conocimiento sobre síntomas de Influenza y COVID-19. Pregunta: ¿Conoce cuáles son los síntomas de la infección por los virus de influenza y COVID-19? Si: 25%; No: 75%. Fuente: Elaboración Propia (2024)

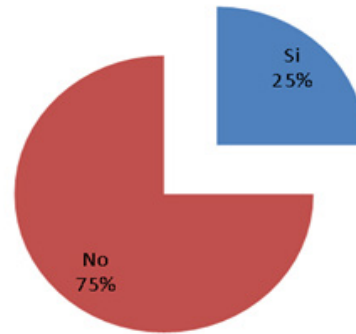


Gráfico 4. Conocimiento de los medicamentos que son aceptados en el Ecuador para el tratamiento de COVID-19 y la influenza. Pregunta: ¿Conoce cuales medicamentos son aceptados dentro del Ecuador para el tratamiento del COVID-19 y la influenza? Si: 25%; No: 75%. Fuente: Elaboración Propia (2024)

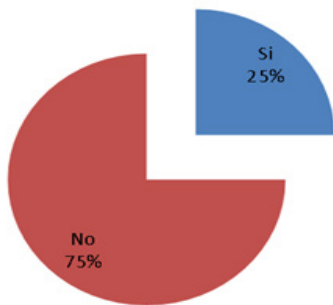


Gráfico 2. Formación extra-cátedra sobre infecciones virales. Pregunta: ¿Se ha formado en el área de certificación de uso de medicamentos permitidos para el tratamiento de infecciones virales? Si: 25%; No: 75%. Fuente: Elaboración Propia (2024)

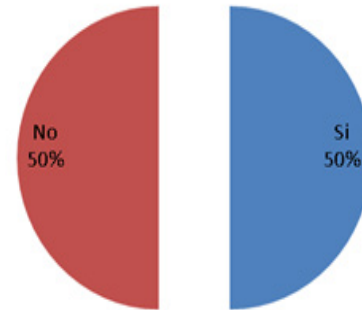


Gráfico 5. Conocimiento sobre la inmunización preventiva. Pregunta: ¿Sabe que la inmunización es el primero de los elementos considerados en la atención de las enfermedades por COVID-19 e influenza? Si: 50%; No: 50%. Fuente: Elaboración Propia (2024)

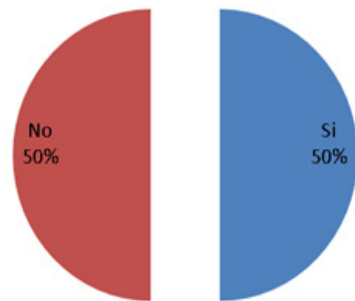


Gráfico 3. Uso de medicamentos retrovirales puede ser útil en el tratamiento de virus como el COVID-19 y la influenza. Pregunta: ¿Sabía usted que el uso de medicamentos retrovirales puede ser útil en el tratamiento de virus como el COVID-19 y la influenza? Si: 50%; No: 50%. Fuente: Elaboración Propia (2024)

suministro y estandarización de medicinas para el tratamiento de influenza y COVID-19 en Ecuador según la normativa vigente. En general, se observa que los estudiantes no han recibido formación particular y extra-cátedra en legislación de medicamentos, de acuerdo con las respuestas obtenidas.

En 2009-2010, el planeta enfrentó una pandemia causada por el virus de la gripe A (H1N1), también conocida como gripe porcina. Si bien se convirtió en

una pandemia en 2009, hoy en día se considera un virus gripal estacional que circula junto con otros subtipos, incluyendo el H3N2, dentro de las temporadas de gripe. La Influenza surge rápidamente en epidemias estacionales alrededor del mundo, provocando un impacto económico en las comunidades impactadas por los costos que genera en términos de cuidados, fármacos, internamientos y tratamiento de las complicaciones, así como por la pérdida de la capacidad laboral de las personas afectadas.

La OMS ha actualizado sus directrices para el tratamiento de la influenza, enfocándose en el manejo de pacientes con gripe estacional y virus con potencial pandémico. Algunas de las recomendaciones clave incluyen el uso de antivirales como el oseltamivir para el tratamiento de la influenza grave dentro de los primeros dos días de aparición de síntomas. Y entre las medidas de prevención recomienda la vacunación sigue siendo la estrategia más efectiva para reducir la gravedad de la enfermedad. Para casos graves, se enfatiza el monitoreo de complicaciones respiratorias y el uso de oxigenoterapia cuando sea necesario.

Por su parte, el tratamiento de la COVID-19 de acuerdo con la OMS (2022) ha consistido en la vacunación principalmente, además de otros suministros de sustancias como fármacos de tipo antibióticos, esteroides y oxigenoterapia, siendo la inmunización la principal figura médica para reducir la incidencia de esta enfermedad, por lo que la vacunación se ha aplicado en casi todos los países del mundo, con más de 12.000 millones de dosis suministradas y el 61% de la población mundial ha recibido la serie primaria. Esta ha sido la campaña de vacunación mundial más rápida y compleja

de la historia. Las campañas de vacunación masiva se utilizaron como enfoque principal de entrega para llegar a las poblaciones objetivo de forma rápida y amplia.

Ahora bien, al consultar a los estudiantes respecto al tratamiento terapéutico, la mayoría de los participantes del estudio respondieron desconocer con precisión la forma de atender a los síntomas de estas afecciones, sin embargo, afirmaron que es posible medicar con antivirales. Igualmente, al consultar a los estudiantes de la especialidad de Farmacia sobre el conocimiento que poseen del tratamiento de las infecciones producidas por COVID-19 y el virus de la influenza, se obtuvo que en general todos poseen conocimiento sobre la primera opción de atención preventiva de la enfermedad, la cual consiste en la inmunización.

Según Sánchez (2024), se cuenta con vacunas para evitar la infección por el coronavirus SARS-CoV-2, las cuales comenzaron a ser distribuidas a la población más vulnerable a finales de 2020. Las primeras vacunas a nivel europeo fueron las producidas por la Universidad de Oxford-AstraZeneca, Pfizer-BioNTech y Moderna, y posteriormente la de Janssen. La vacuna desarrollada por AstraZeneca y la Universidad de Oxford, se denominó inicialmente AZD1222, y su formulación es una vacuna de vector viral que carece de la capacidad de replicarse tras penetrar en las células del huésped. Contiene la proteína S, la principal proteína inmunogénica. BioNTech y Pfizer anunciaron en diciembre de 2020 que habían completado todos los criterios de valoración principales relacionados con la eficacia de su vacuna de ARNm. A través de una asociación estratégica, ambas empresas tuvieron éxito en el desarrollo de BNT162b3, que es un

ARN mensajero modificado con nucleósidos, llamado modRNA0. Esta vacuna expresa la proteína vital Spike (S) que se encuentra en la cubierta proteica del SARS-CoV-2 para inducir inmunogenicidad contra el agente viral después de la administración. Tanto los perfiles de inmunogenicidad como de seguridad del agente se establecieron en ensayos clínicos de etapa temprana. Por su parte, Moderna, Inc., una compañía de biotecnología con sede en los Estados Unidos que se especializa en biotecnología en etapa clínica, patrocinó y completó estudios avanzados de fase III en humano de la vacuna llamada ARNm-1273 contra la COVID-19. El ARNm-1273, compuesta por ARN mensajero (ARNm) encapsulado en nanopartículas lipídicas y modificado con nucleósidos, y una glicoproteína de la espícula (S) del SARS-CoV-2 en estado de prefusión. Esta glicoproteína S es fundamental para la infiltración viral en la célula huésped, moderando las interacciones entre el virus y la célula. La vacuna Hipra (Bimervax, nombre comercial del medicamento), aprobada a finales de marzo de 2023, está indicada como dosis de refuerzo (*booster*) para aquellas personas a partir de 16 años que hayan recibido la pauta de primovacunación con una vacuna de ARNm, al menos 6 meses después de la última dosis de una vacuna recibida. La vacuna de Hipra frente a la COVID-19 está basada en una proteína recombinante heterodimérica que contiene el sitio de unión al receptor (RBD, por sus siglas en inglés) de la proteína S (de *spike* o proteína espiga en español) de las variantes alfa y beta del SARS-CoV-2. Esto significa que esta vacuna bivalente contiene información para inducir una respuesta en forma de anticuerpos contra dos variantes del SARS-CoV-2. Este antígeno está acompañado de un adyuvante que incrementa la respuesta inmune (Ahmed y col., 2021).

Además del avance en medicamentos y vacunas, entender la propagación de un patógeno es esencial para implementar estrategias preventivas. Al respecto, se pudo verificar que los estudiantes desconocen los tratamientos por nombres científicos, así como los comerciales y genéricos que sirven para el padecimiento que origina en la salud el virus del COVID-19 y la influenza, además también confunden los síntomas que se distinguen en cada uno. Considerando que la COVID-19 es una enfermedad respiratoria de leve a moderada, cuyos síntomas son la congestión o moqueo, la pérdida reciente del olfato o el gusto, fatiga y dolores musculares y corporales. Por su parte, la gripe es una infección viral provocada por el virus Influenza (Flu), que impacta en el sistema respiratorio superior, generando una amplia gama de síntomas (IBC, 2023).

En vista de los hallazgos del presente trabajo y con el fin de mejorar la información de los estudiantes de Farmacología de la Universidad de Cuenca sobre la reglamentación del tratamiento de la COVID-19 y la Influenza, se sugiere que los estudiantes consulten fuentes oficiales como el *Ministerio de Salud Pública de Ecuador* y el *Agencia de Aseguramiento de la Calidad de los Servicios de Salud* para obtener normativas actualizadas sobre vigilancia epidemiológica y tratamiento. Igualmente, se debería realizar cursos y talleres de capacitación con expertos en salud pública y farmacología para discutir los lineamientos de vigilancia integrada y protocolos de tratamiento. Sería recomendable la incorporar guías y documentos normativos en el plan de estudios, como el Plan Nacional de Contingencia para Influenza, que proporciona estrategias de vacunación y preparación ante pandemias.

Este estudio tiene limitaciones ya que la encuesta estuvo restringida a una población homogénea y reducida perteneciente a una sola Institución ecuatoriana, por lo que sería necesario ampliar el estudio a otras Universidades.

Conflicto de interés

Los autores declaran que no existe conflicto de interés.

Referencias Bibliográficas

- Ahmed S, Khan S, Imran I, Al Mughairbi F, Sheikh FS, Hussain J, Khan A, Al-Harrasi A. 2021. Vaccine Development against COVID-19: Study from Pre-Clinical Phases to Clinical Trials and Global Use. *Vaccines (Basel)* 9(8):836.
- Congreso Nacional de Ecuador. 2000. Reglamento a la Ley de Medicamentos Genéricos de Uso Humano. Decreto Ejecutivo 392 Registro Oficial 84 de 24-may.-2000 Última modificación: 23-dic.-2020 Estado: Reformado.
- Congreso Nacional de Ecuador. 2011. Ley De Medicamentos Genéricos De Uso Humano. Registro Oficial 162 de 09-dic.-2005 Última modificación: 13-oct.-2011 Estado: Reformado.
- Díaz F, Toro A. 2020. SARS-CoV-2/COVID-19: el virus, la enfermedad y la pandemia. Editora Médica Colombiana S.A. *Medicina & Laboratorio* 24:183-205.
- Guo YR, Cao QD, Hong ZS, Tan YY, Chen SD, Jin HJ, Tan KS, Wang DY, Yan Y. 2020. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak - an update on the status. *Mil Med Res* 7(1):11.
- IBC. 2023. Gripe: Virus de Influenza, diagnóstico, tratamiento y prevención. Disponible en: <https://www.ibcrosario.com.ar/articulos/Influenza.html>
- Instituto de los Seguros Sociales de México. 2021. Prevención, Diagnóstico y Tratamiento de la Influenza A (H1N1). Disponible en: https://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/guiasclinicas/000GRR_H1N1.pdf.
- Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, Wang W, Song H, Huang B, Zhu N, Bi Y, Ma X, Zhan F, Wang L, Hu T, Zhou H, Hu Z, Zhou W, Zhao L, Chen J, Meng Y, Wang J, Lin Y, Yuan J, Xie Z, Ma J, Liu WJ, Wang D, Xu W, Holmes EC, Wu G, Chen W, Tan W . 2020. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet* 395:565-574.
- Mayoclinic. 2024. Diagnóstico de la influenza. Disponible en: <https://www.mayoclinic.org/es/diseases-conditions/flu/diagnosis-treatment/drc-20351725>.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 2022. Consideraciones para integrar la vacunación contra la COVID-19 en los programas de inmunización y en la atención primaria de salud para 2022 y más adelante Ginebra: Organización Mundial de la Salud. Disponible en: <https://covid19.who.int>.
- Organización Panamericana de la Salud. 2024. Coronavirus. Disponible en: <https://www.paho.org/es/temas/coronavirus>.
- Ramos J, Modesto N. 2021. Nivel de conocimiento sobre los medicamentos genéricos de venta obligatoria en profesionales de farmacia que laboran en las boticas del distrito San Martín de Porres, 2021. Universidad Privada Norbert Wiener Facultad De Farmacia y Bioquímica. Escuela Académico Profesional De Farmacia y Bioquímica, Lima, Perú.
- Sánchez M. 2024. Coronavirus. Disponible en: <https://cuidateplus.marca.com/enfermedades/infeciosas/coronavirus.html>.
- Sociedad Ecuatoriana de Alergia, Asma e Inmunología (SEAAI). 2022. Publicación de Sociedad Ecuatoriana De Alergia. Disponible en: https://www.facebook.com/SociedadEcuatorianaDeAlergiaAsmaEInmunologiaseaai/?profile_tab_item_selected=mentions&_rdr
- Wu Z, McGoogan JM. 2019. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: Summary of a report of 72314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA*. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.2648>.



Efecto de la L-arginina sobre la dimetilarginina asimétrica y el óxido nítrico en la aterosclerosis

Effect of L-arginine on asymmetric dimethylarginine and nitric oxide in atherosclerosis

LETICIA FIGUEIRA^{*,**1}, JULIO CÉSAR GONZÁLEZ^{*,***2}

Resumen

El endotelio juega un papel importante en el mantenimiento de la estructura y tono vascular. El óxido nítrico (NO) es uno de los principales mediadores vasoactivos derivados del endotelio y es sintetizado a partir del aminoácido L-arginina (L-Arg). La dimetilarginina asimétrica (ADMA) es un inhibidor competitivo de la sintasa de óxido nítrico (NOS); por lo que inhibe la formación de NO. Esta molécula se le ha implicado como un factor de riesgo para la disfunción endotelial. En el presente estudio se evaluó el efecto de la administración oral de L-Arg sobre los niveles séricos de ADMA, NO y los productos de peroxidación lipídica (TBARS) y la formación de ateromas en conejos alimentados con una dieta enriquecida con colesterol. Para ello, 40 conejos machos Nueva Zelanda fueron divididos en cuatro grupos durante 12 semanas: Grupo 1 (control): Conejarina. Grupo 2: Conejarina suplementada con 0,5% p/p de colesterol. Grupo 3 (control L-Arg): Conejarina y L-Arg (1,5%, vía oral en el agua). Grupo 4: Conejarina suplementada con 0,5% colesterol y L-Arg. Se realizaron determinaciones séricas de colesterol y sus fracciones, ADMA, NO y TBARS al inicio y final del estudio (12ma semana de experimentación). Al final del estudio todos los conejos de cada grupo fueron sacrificados y se realizó estudio histológico de su aorta. Los resultados demuestran que a las 12 semanas, la dieta enriquecida con colesterol aumentó significativamente los niveles séricos de ADMA y TBARS y disminuyó los de NO ($p < 0,005$). La L-Arg revirtió significativamente los cambios de las concentraciones séricas de ADMA y NO inducidas por la dieta enriquecida con colesterol ($p < 0,0050$), pero no afectó significativamente los incrementos de TBARS. El tratamiento con L-Arg no tuvo mucho efecto sobre el grado de ateromas. En conclusión, la ADMA, NO y TBARS son marcadores séricos no invasivos de aterosclerosis; sugiriendo el papel del estrés oxidativo y la disfunción endotelial en la fisiopatología de esta enfermedad. Asimismo, la suplementación con L-Arg, puede ser útil para disminuir los niveles de ADMA y aumentar los de NO, posiblemente mejorando la disfunción endotelial.

Palabras clave: L-arginina, dimetilarginina asimétrica, óxido nítrico, sintasa de óxido nítrico, estrés oxidativo, disfunción endotelial, aterosclerosis

Abstract

The endothelium plays a crucial role in maintaining vascular tone and structure. One of the major endothelium-derived vasoactive mediators is nitric oxide (NO), which is synthesized from the amino acid L-arginine (L-Arg). Asymmetric dimethylarginine (ADMA) is an endogenous competitive inhibitor of NO synthase (NOS). ADMA inhibits vascular NO production. This molecule has been implicated as a risk factor for endothelial dysfunction. We evaluated the effect of L-Arg on serum levels of ADMA, NO and thiobarbituric acid-reactive lipid peroxidation products (TBARS) and atherosclerosis lesion formation in rabbits fed with a cholesterol diet. 40 New Zealand white male rabbits were randomly divided into four groups that received for 12 weeks: Group 1 (control): Standard diet (commercial rabbit food). Group 2: Cholesterol diet (0.5% cholesterol). Group 3 (control L-Arg): Standard diet (commercial rabbit food) and L-Arg (1.5% in drinking water). Group 4: Cholesterol diet (0.5% cholesterol) and L-Arg (1.5% in drinking water). Blood samples of overnight-fasted rabbits were collected on the basal and final experiment (twelfth week), and the concentration of lipid profile, ADMA, NO, and TBARS was determined. All animals were sacrificed on the twelfth week, and the aorta was dissected for histological studies. Our findings demonstrate that in 12 weeks, the cholesterol-enriched diet significantly increased serum levels of ADMA and TBARS and decreased NO ($p < 0.005$). L-Arg significantly reversed the changes in serum concentrations of ADMA and NO induced by the cholesterol-enriched diet ($p < 0.0050$) but did not significantly affect the increases in TBARS. L-Arg treatment had little effect on the degree of atherosclerotic lesions. These results support that serum ADMA, NO, and TBARS levels are markers of atherosclerosis, suggesting a role for oxidative stress and endothelial dysfunction in atherosclerosis. Likewise, oral supplementation of L-Arg may be useful in decreasing ADMA and increasing NO levels, possibly improving endothelial dysfunction.

Keywords: L-arginine, Asymmetric dimethylarginine, nitric oxide, nitric oxide synthase, oxidative stress, endothelial dysfunction, atherosclerosis

*Laboratorio de Investigación y Postgrado de la Escuela de Bioanálisis (LIPEB), Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo, Carabobo, Venezuela. **Laboratorio Clínico Dra. Leticia Figueira, Carabobo – Venezuela, ***Laboratorio Clínico Julio César González. Carabobo, Venezuela. Correspondencia: figueiraleticia@gmail.com

Orcid: [10000-0003-3865-5355](https://orcid.org/0000-0003-3865-5355)

[20000-0003-1980-5848](https://orcid.org/0000-0003-1980-5848)

DOI: [10.54305/RFFUCV.2025.88.1-2.10](https://doi.org/10.54305/RFFUCV.2025.88.1-2.10)

Disponible: http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_ff

Recepción: 30/05/2025

Aprobación: 05/06/2025

Rev. Fac. Farmacia 88(1): 98-115. 2025

Introducción

El endotelio juega una función importante en el mantenimiento del tono y estructura vascular. Uno de los principales mediadores vasoactivos derivados del endotelio es el óxido nítrico (NO); el cual es un radical libre involucrado en la regulación de diversos procesos biológicos como la relajación y proliferación de las células de músculo liso, angiogénesis, respuesta inmunológica, secreción de insulina, señalización y comunicación celular, apoptosis, inflamación, en la fisiopatología de enfermedades cardiovasculares (CDV), diabetes y estrés oxidativo (Newsholme y col., 2009). El NO es sintetizado a partir del aminoácido semi-esencial L-arginina (L-Arg) en una reacción oxidativa que consume oxígeno molecular y equivalentes reductores en la forma de NADPH. El producto de la reacción es NO, NADP⁺ y citrulina. La enzima involucrada en la síntesis del NO es la sintasa del NO (NOS), de la cual se han descrito tres isoenzimas, la neuronal o tipo 1 (nNOS), la inducible (iNOS) y la endotelial (eNOS) (Das y col., 2011).

La disminución en la producción de NO puede ocasionar disfunción endotelial, disminución del flujo sanguíneo, del transporte de la glucosa, resistencia a la insulina, hipertensión y diabetes; de hecho, diversos estudios han reportado que la producción de NO se ve disminuida en diversas enfermedades CDV y metabólicas ocasionando importantes alteraciones fisiológicas (Krause y col., 2012).

Entre los mecanismos que subyace la baja producción y biodisponibilidad del NO en las enfermedades CDV y metabólicas, destaca la disminución de los niveles sanguíneos de insulina, el incremento en

la producción de angiotensina II (Ang II), la hiperhomocisteinemia, el incremento de los niveles de la dimetilarginina asimétrica (ADMA) y los bajos niveles plasmáticos de L-Arg (Newsholme y col., 2009); por lo tanto, la suplementación con L-Arg es considerada como una terapia potencial para el tratamiento de las enfermedades CDV y metabólicas al restaurar los niveles de NO (Rodrigues-Krause y col., 2018).

Se ha descrito que el NO juega un papel crucial en el sistema vascular y en el corazón; pues en la vasculatura coronaria, participa en la vasodilatación, disminuye la expresión y producción de moléculas de adhesión celular, la agregación plaquetaria, proliferación vascular y angiogénesis (Poeggeler y col., 2023). En los cardiomiocitos, las acciones del NO son más complejas, pues pueden inducir diferentes efectos, y en ocasiones opuestos en la función cardíaca, como la activación de la apoptosis y mejoría de la función ventricular izquierda (Visser y col., 2010).

La producción de NO puede verse alterada por inhibidores de la NOS, como la ADMA, un análogo de la L-Arg; inhibidor competitivo de la NOS. En este sentido, este compuesto ha sido señalado como un nuevo marcador de riesgo cardiovascular y disfunción endotelial (Mortensen y col., 2024); encontrándose niveles elevados de esta molécula en pacientes con enfermedades CDV con respecto a sujetos aparentemente sanos; siendo un marcador de mal pronóstico en estos pacientes (Vilcea y col., 2024). Estudios longitudinales revelan que la ADMA predice la morbi – mortalidad CDV tanto en pacientes con infarto al miocardio como accidente cerebrovascular (Aslan, 2011; Konya y

col., 2014); en efecto, concentraciones elevadas de ADMA causan alteración en la síntesis de NO, lo cual conlleva disfunción endotelial y aterogénesis (Konya y col., 2015; Dowsett y col., 2020). Asimismo, se ha descrito que la infusión de ADMA tanto en ratas como en humanos, aumenta la presión arterial sistólica de manera dosis dependiente, reduce los niveles de nitritos/nitratos y de guanosina monofosfato cíclico (GMPc), el principal segundo mensajero del NO (Kielstein y col., 2004; De Gennaro y col., 2007); por lo tanto, estudios *in vivo* e *in vitro* demuestran que la ADMA ejerce poderosos efectos sobre la función endotelial, reduciendo la integridad de la barrera, e incrementando la producción de especies reactivas de oxígeno (EROS) y marcadores inflamatorios, muchos de estos efectos son mediados mediante la inhibición de la producción de NO; lo cual sugiere los efectos proaterogénicos de esta molécula (Dowsett y col., 2020).

La ADMA puede ser excretada por los riñones o metabolizada por la enzima dimetilarginina dimetilaminohidrolasa (DDAH). Dado que la ADMA inhibe la producción de NO al competir con la arginina por la unión de la NOS, la cantidad neta de producción de NO podría indicarse por la relación entre el sustrato y el inhibidor, la relación arginina/ADMA. Por lo tanto, el efecto perjudicial de la ADMA podría inhibirse al aumentar la concentración de arginina o la concentración de sus precursores, citrulina y glutamina, lo que aumentaría la relación arginina/ADMA y, por consiguiente, podría revertir la inhibición competitiva de la NOS por la ADMA (Visser y col., 2010). Por lo tanto, la suplementación con L-Arg podría constituir una terapia potencial para el tratamiento de enfermedades CDV y metabólicas al

disminuir la disfunción endotelial, al reducir la ADMA y mejorar la producción de NO por parte de la eNOS; sin embargo, su eficacia no está del todo clara debido al empleo de diferentes fuentes de L-Arg, diferentes regímenes de dosificación y a la población estudiada (Rodrigues-Krause y col., 2018). Es por ello que, en el presente estudio se evaluó el efecto de la administración oral de L-Arg sobre los niveles séricos de ADMA, NO y TBARS y la formación de ateromas en conejos alimentados con una dieta enriquecida con colesterol.

Materiales y Métodos

ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Se emplearon 40 conejos machos de la raza Nueva Zelanda de 12 semanas de edad con un peso entre 1.200 a 1.300 gramos, provenientes del Bioterio del Instituto de Higiene "Rafael Rangel" (Caracas, Venezuela). Los animales fueron mantenidos en jaulas a temperatura ambiente (25 ± 1 °C) con ciclos de 12 horas luz/oscuridad. Después de una semana de ambientación en el Bioterio Experimental de la Universidad de Carabobo (Valencia, Venezuela), los conejos fueron divididos aleatoriamente en cuatro grupos de 10 conejos cada uno, organizados de la siguiente manera: Grupo 1 (Control): Los cuales fueron alimentados diariamente con conejarina comercial (Protinal, Venezuela). Grupo 2 (Colesterol): Alimentados diariamente con conejarina comercial suplementada con 0,5% p/p de colesterol. Grupo 3 (Control-L-Arg): Alimentados diariamente con conejarina comercial y suplementados con L-Arg (1,5%, vía oral en el agua). Grupo 4 (Colesterol-L-Arg):

Alimentados diariamente con conejarina comercial suplementada con 0,5% p/p de colesterol y L-Arg (1,5%, vía oral en el agua).

Todos los conejos consumieron agua a libre demanda. El periodo experimental tuvo una duración de doce semanas. Los conejos fueron pesados antes, durante y después de la experimentación. Los experimentos fueron aprobados por el comité de Bioética, y siguieron las buenas prácticas para el manejo de animales de laboratorio del National Institute of Health (NIH Publications No. 8023,1978).

ANÁLISIS QUÍMICO DE LOS ALIMENTOS

Conejarina comercial (Protinal, Venezuela). Maíz, sorgo, afrechillo de trigo, harinas de maíz, ajonjolí, algodón, girasol y soya, concha de arroz, bagacillo de caña, pasto deshidratado, melaza, grasa estabilizada, carbonato y fosfato de calcio, sal, minerales "trazas" (cobalto, cobre, hierro, manganeso, yodo y zinc) suplementos de las vitaminas A, B2, B12, C, D3, E, ácido pantoténico y niacina, antioxidante, suplemento antibiótico y anticoccidial. Proteína cruda 12%, grasa cruda 1%, fibra cruda 20%, extracto libre de nitrógeno 42%.

Dieta hipercolesterolémica. La administración de colesterol mediante el enriquecimiento de una dieta estándar se realizó de acuerdo con el método descrito en los modelos animales de aterosclerosis inducida por la dieta (Rasmusen y col., 2007); la cual se preparó disolviendo el colesterol en etil-éter y etanol absoluto, y cubriendo con esta mezcla los granos de la conejarina en una relación de 0,5 g de colesterol por cada 100 g de alimento y se dejó secar hasta la evaporación completa de los solventes por 24 horas.

Procedimiento experimental.
Determinaciones bioquímicas. Las muestras de sangre fueron extraídas por punción intracardiaca a todos los conejos previo ayuno de 14 horas al inicio (semana 0) y final del estudio (12ma semana), utilizando tubos sin anticoagulante. Posteriormente, las muestras previamente mantenidas en frío se centrifugaron a 3.000 rpm durante 15 minutos y el suero obtenido fue conservado en congelación a -70°C hasta el momento del procesamiento. Se realizaron determinaciones séricas de colesterol total (CT) por método enzimáticos (Wiener Lab, Argentina). La determinación del colesterol asociado a las lipoproteínas de alta densidad (c-HDL) y asociado a las lipoproteínas de baja densidad (c-LDL) se realizaron por precipitación y posterior determinación enzimática (Wiener Lab, Argentina). Las concentraciones séricas de ADMA fueron determinadas por ensayo inmunoenzimático (NeoBiolab, Cambridge, Massachusetts, USA). El NO sérico fue determinado indirectamente mediante la determinación de los niveles de nitritos/nitratos usando la reacción de Griess (Green y col., 1982). Para ello, 50 μ L de reactivo de Griess fueron añadidos a 50 μ L de suero, incubado por 10 minutos a temperatura ambiente y la absorbancia fue medida a 570 nm. Los resultados obtenidos fueron referidos a un patrón de nitrito de sodio y expresado en μ M. Las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) fueron evaluadas por un método colorimétrico, el cual consistió en evaluar el efecto de las EROS sobre los lípidos, que resulta en la producción de varias sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico y que pueden ser cuantificadas mediante espectrofotometría (Ohkawa y col., 1979).

Sacrificio de los animales. Preparación de tejidos y tipificación histológica de las lesiones ateroscleróticas. Al final del estudio se sacrificó por dislocación cervical a todos los conejos de cada grupo. Se procedió a realizar la autopsia de dichos animales, extrayendo la arteria aorta para ser examinada. Las muestras de tejido extraídas fueron fijadas en formaldehído al 10 % en solución salina tamponada con fosfato (PBS) durante 24 horas y procesadas según la técnica de rutina y posteriormente teñidas con hematoxilina – eosina, para luego ser observados por microscopía de luz. Las lesiones fueron tipificadas de acuerdo con la clasificación de la American Heart Association, la cual considera como lesiones tipo I, aquellas iniciales constituidas por células espumosas sub-endoteliales aisladas; las lesiones tipo II constituidas principalmente por un cúmulo de lípidos intracelulares; las lesiones tipo III son intermedias o pre-ateromas, caracterizadas por cúmulos de lípidos intracelulares y dispersos lípidos extracelulares; las lesiones tipo IV son los ateromas, representan lesiones avanzadas, y están constituidas por lípidos intracelulares y por una gran cantidad de lípidos extracelulares; las lesiones tipo V contienen tejido conectivo fibroso y en ocasiones se encuentran calcificaciones y las lesiones tipo VI son las placas complicadas (fisura, trombos, hematomas) (Stary y col., 1995).

Análisis de los datos

Se calculó el promedio y la desviación estándar para las variables estudiadas. Se realizó las pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov, Jarque-Bera. Se empleó el análisis de Kruskal-Wallis con análisis post hoc mediante la prueba de U- de Mann-Whitney sobre cada par de grupos. Se consideró significativo un valor de $p < 0,05$. Se utilizó el programa GraphPad Prism versión 5.

RESULTADOS

PERFIL LIPÍDICO DE LOS CONEJOS

En la Tabla I se resume las concentraciones de los lípidos séricos de los conejos. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones basales de colesterol (CT) y sus fracciones entre los grupos de conejos en estudio. El CT y sus fracciones en el grupo 1 y 3 permanecieron sin cambios significativos a lo largo del estudio. Sin embargo, se apreció que la dieta rica en colesterol aumentó significativamente la concentración de CT y sus fracciones (grupo 2) con respecto a sus respectivos controles (grupo 1) ($p < 0,0001$). El tratamiento con L-Arg no fue capaz de revertir los incrementos inducidos por la dieta enriquecida con colesterol en las concentraciones séricas de CT y sus fracciones (grupos 4) si se compara con su control y el valor basal (grupos 1 y 3) ($p < 0,0001$).

CONCENTRACIONES SÉRICAS DE ADMA, NO Y TBARS

Como se puede apreciar en las Figuras 1, 2 y 3, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones séricas basales de ADMA, NO y TBARS entre los grupos de conejos sujetos a estudio. De igual manera, los resultados demuestran que al final del estudio, la dieta enriquecida con colesterol aumentó significativamente los niveles séricos de ADMA y TBARS y disminuyó los de NO (grupo 2) ($p < 0,005$) cuando se comparan con su control (grupo 1). El tratamiento con L-Arg no afectó los niveles basales de ADMA, TBARS y NO (grupo 3) pero fue capaz de revertir significativamente los cambios de las concentraciones séricas de ADMA y NO inducidas por la dieta enriquecida

Tabla I.
Lípidos séricos de los conejos sujetos a estudio

	CT (mg/dL)	c-LDL (mg/dL)	c-HDL (mg/dL)
Basal			
Grupo 1	73 ± 20	38 ± 11	29 ± 12
Grupo 2	67 ± 25	39 ± 10	31 ± 11
Grupo 3	75 ± 19	41 ± 9	32 ± 10
Grupo 4	70 ± 22	37 ± 13	31 ± 10
12ma semana			
Grupo 1	82 ± 22	42 ± 14	34 ± 12
Grupo 2	1204 ± 243*	901 ± 141*	77 ± 40*
Grupo 3	79 ± 21	40 ± 12	35 ± 10
Grupo 4	1098 ± 220#	891 ± 172#	81 ± 44#
Valores p			
Grupo 1	0,9655	0,9462	0,9208
Grupo 2	0,0001	0,0001	0,0001
Grupo 3	0,9735	0,9846	0,9607
Grupo 4	0,0001	0,0001	0,0001

Los resultados fueron expresados como la media ± desviación estándar de la media. Significativo $p < 0,05$. * = Comparación con respecto al grupo 1. # = Comparación con respecto al grupo 3. p = Comparación con respecto al basal

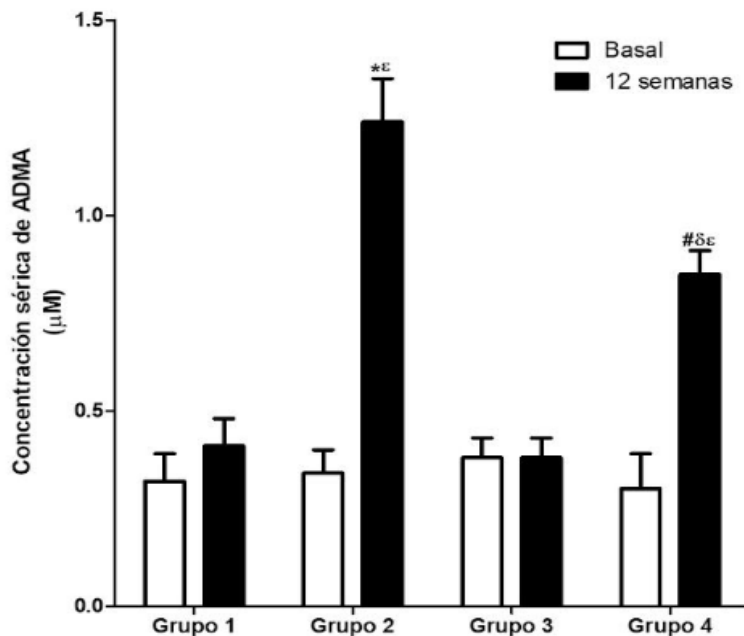


Figura 1. Efecto de la L-Arg sobre las concentraciones séricas de ADMA en los conejos sujetos a experimentación al inicio y final del estudio. Los resultados fueron expresados como la media ± desviación estándar de la media (n=10). * $p < 0,0050$ vs. grupo control (Grupo 1). # $p < 0,0050$ vs. control L-Arg (Grupo 3). † $p < 0,005$ vs. Grupo 2. ‡ $p < 0,0001$ vs. su respectivo valor basal

con colesterol ($p < 0,0050$), sin afectar significativamente los incrementos séricos de TBARS (grupo 4) ($p < 0,0050$).

ANÁLISIS HISTOLÓGICO DE LA AORTA

En la Tabla II se presenta la distribución de los conejos según el máximo grado de ateroma encontrado en los cortes de aorta, evidenciando que ningún conejo de los grupos 1 y 3 presentaron lesiones ateroscleróticas. Por su parte, los conejos del grupo 2 y 4 tratados con dieta enriquecida con colesterol presentaron lesiones de grado intermedio y avanzado al finalizar el estudio (Figura 4). El tratamiento con L-Arg no afectó la formación de ateromas inducido por la dieta enriquecida con colesterol encontrado en los cortes de aorta (grupo 4).

Discusión

El endotelio es un revestimiento continuo dentro de los vasos sanguíneos, el cual juega un papel importante en la homeostasis vascular mediante la regulación del tono vascular, de la proliferación de células de músculo liso, la adhesión de células inmunes y la inflamación vascular; a través de la producción de factores bioactivos; entre los que incluyen sustancias relajantes derivadas del endotelio como las prostaglandinas y el NO; así como factores constrictores derivados del endotelio como la Ang II y la endotelina-1 (Wang y He, 2024). Por lo tanto, el endotelio vascular constituye una interfaz dinámicamente cambiante, cuyas propiedades estructurales y funcionales responden a una variedad de estímulos, tanto

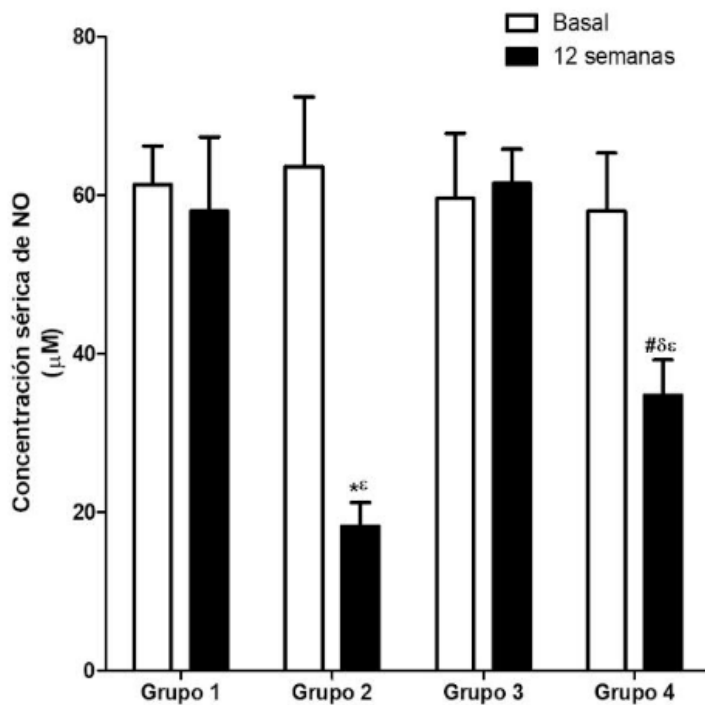


Figura 2. Efecto de la L-Arg sobre las concentraciones séricas de NO en los conejos sujetos a experimentación al inicio y final del estudio. Los resultados fueron expresados como la media \pm desviación estándar de la media (n=10). *p<0,0050 vs. grupo control (Grupo 1). #p<0,0050 vs. control L-Arg (Grupo 3). ζ p<0,005 vs. Grupo 2. ϵ p<0,0001 vs. su respectivo valor basal

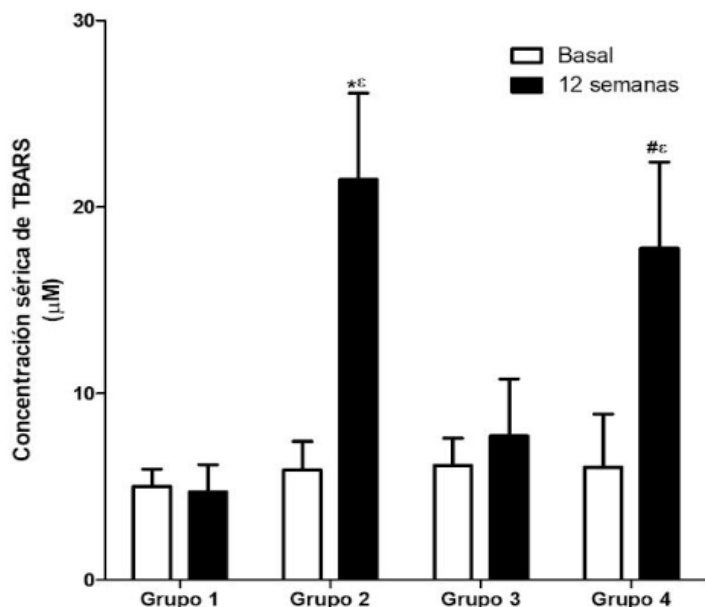


Figura 3. Efecto de la L-Arg sobre las concentraciones séricas de TBARS en los conejos sujetos a experimentación al inicio y final del estudio. Los resultados fueron expresados como la media \pm desviación estándar de la media (n=10). *p<0,0050 vs. grupo control (Grupo 1). #p<0,0050 vs. control L-Arg (Grupo 3). ϵ p<0,0001 vs. su respectivo valor basal

locales como sistémicos, y que su modulación fenotípica a un estado disfuncional puede constituir un factor de riesgo importante para enfermedades vasculares como la aterosclerosis (Gimbrone y col., 2013).

La disfunción endotelial está caracterizada por un desbalance entre la producción de sustancias vasodilatadoras y vasoconstrictoras; y se ha postulado que es el paso inicial en la patogénesis de la aterosclerosis y las enfermedades CDV; de hecho la falla en la vasodilatación dependiente del endotelio es una característica común encontrada en la vasculatura de pacientes con enfermedades CDV; y la mejoría de la función endotelial podría prevenir el desarrollo y progresión de la aterosclerosis, lo cual resulta en una disminución de los eventos cardíacos (Higashi y col., 2009; Cao y col., 2024).

El NO es un radical libre gaseoso caracterizado por su alta actividad y fácil difusión, sintetizado por tres subtipos distintos de enzimas NOS (Solomonson y col., 2003; Poeggeler y col., 2023; Wang y He, 2024). El NO es una molécula de señalización que tiene efectos cardioprotectores y antiaterogénicos; pues previene la adhesión y agregación celular y de plaquetas en el endotelio de los vasos sanguíneos (Ignarro y Napoli, 2004). Es un poderoso inhibidor de la proliferación de células de músculo liso, es un antioxidante que produce efectos antiinflamatorios, y puede prevenir la oxidación de las LDL y por lo tanto retrasar la progresión de la aterosclerosis; es más, la deficiencia

Tabla II.
Distribución de los conejos según el máximo grado de ateroma encontrado en los cortes de aorta. Datos presentados como n (%)

Grupo	Sin ateroma	Tipo I	Tipo II	Tipo III	Tipo IV	Tipo V
1	10 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
2	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	4 (40%)	6 (60%)	0 (0%)
3	10 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
4	0 (0%)	0 (0%)	1 (10%)	5 (50%)	4 (40%)	0 (0%)

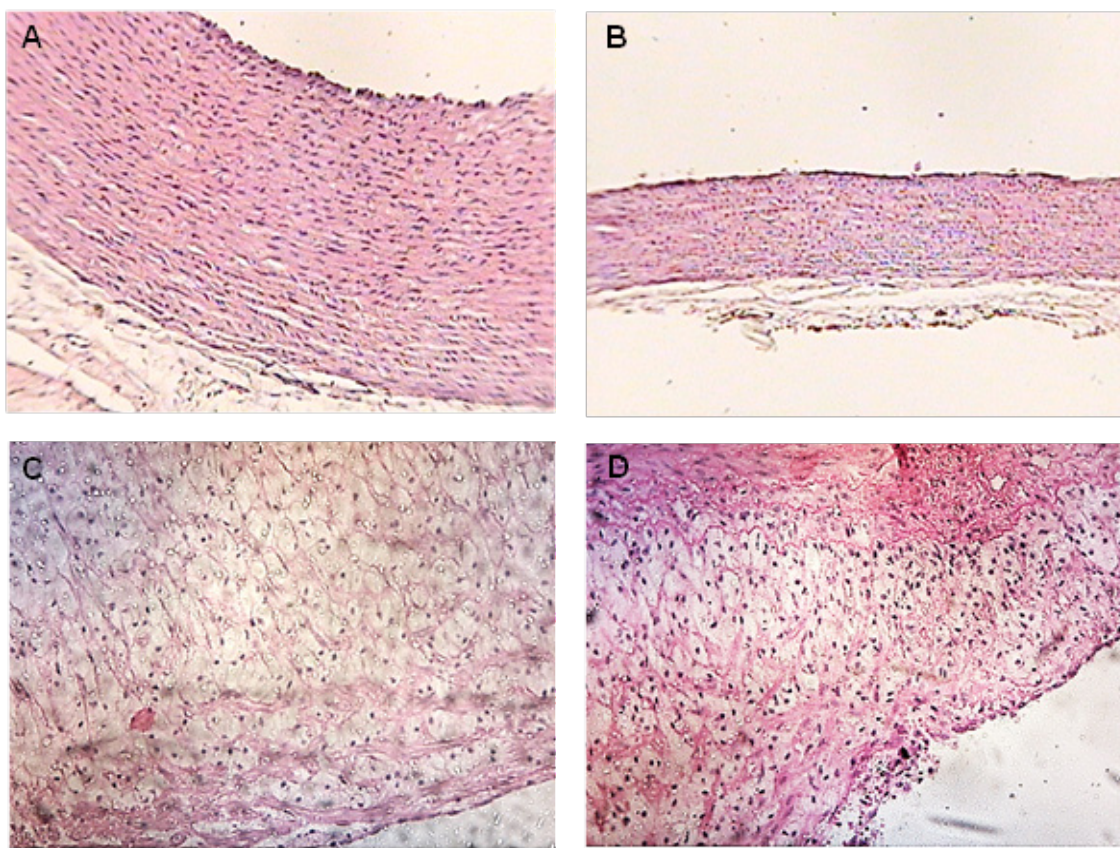


Figura 4. Cortes histológicos de las aortas de los conejos al final del estudio. Sin lesiones (Panel A) de un conejo perteneciente al grupo 1. Aorta normal (Panel B) de un conejo perteneciente al grupo 3. 10X. Lesión tipo IV (Panel C) de un conejo perteneciente al grupo 2. Lesión tipo IV (Panel D) de un conejo perteneciente al grupo 4. Se observa en la íntima arterial lípidos intracelulares y extracelulares en mayor extensión. Tinción hematoxilina – eosina. 50X.

de NO generalmente está asociada con el aumento en la expresión de genes sensibles a la oxidación (Ignarro y col., 2001).

Se ha descrito que la disminución de la biodisponibilidad del NO, puede ser producto de la reducción en su producción y/o incremento en su degradación, y constituye uno de los mecanismos más importantes que induce la disfunción endotelial, pues un desbalance entre los vasodilatadores dependientes del endotelio (especialmente el NO) y las EROS (estrés oxidativo), está involucrado en la disfunción endotelial a través de la inactivación del NO (Higashi y col., 2009; Poeggeler y col., 2023). En efecto, estudios *in vitro*, han demostrado que las LDL oxidadas (LDLox) impiden la estimulación de la síntesis del GMPc inducido por NO, probablemente mediante la acción de lípidos oxidados, abundantes en estas lipoproteínas (Chin y col., 1992). Aparte de estos efectos, donde parece estar incrementada la degradación del NO, se ha observado que a concentraciones elevadas de LDLox se puede inhibir la expresión de la eNOS endotelial y la síntesis de NO en células endoteliales en cultivo *in vitro* (Liao y col., 1995). También se ha puesto de manifiesto una reducción de la expresión de la eNOS en vasos sanguíneos de humanos y animales hipercolesterolémicos (Hernández-Perera y col., 1998).

Por otra parte, la síntesis del NO puede ser inhibida por la ADMA, la cual es un análogo endógeno de la L-Arg sustituido con guanidina, y es un inhibidor competitivo de la NOS (Poeggeler y col., 2023). Además de inhibir la formación de NO, la ADMA puede desacoplar a la NOS, lo cual lleva a la generación de superóxido. En este sentido, la evidencia sugiere que la ADMA puede

contribuir al estrés oxidativo al desacoplar la eNOS a través del agotamiento de la tetrahidrobiopterina (BH₄), lo cual resulta en un cambio en la producción de NO a anión superóxido (Antoniades y col., 2009; Franceschelli y col., 2013), por lo que se ha descrito una fuerte asociación entre el estrés oxidativo, el incremento de la ADMA endotelial y la producción de superóxido mediada por la NOS; por lo tanto la ADMA ha destacado como un marcador de enfermedad CDV y de mortalidad en pacientes con enfermedad arterial coronaria (Appel y col., 2020; Papageorgiou y col., 2023). Se ha postulado que en la población en general, las concentraciones elevadas de ADMA predicen la mortalidad de manera independiente a otros factores de riesgo CDV (Böger y col., 2009), pues es capaz de inhibir la NOS y al transportador de aminoácido catiónicos, participando en la disfunción endotelial y en la generación de estrés oxidativo microvascular, los cuales son importantes mediadores de las enfermedades CDV y la aterosclerosis (Teerlink y col., 2009).

En el presente estudio se encontró que la administración de una dieta enriquecida con colesterol ocasionó un aumento en las concentraciones séricas de ADMA, TBARS y disminución de los niveles de NO, lo cual estuvo acompañado por un incremento en los lípidos séricos y de la presencia de lesiones ateroscleróticas, apoyando la existencia de un estado oxidativo y de disfunción endotelial en la aterosclerosis, sugiriendo la importancia de la disfunción endotelial y estrés oxidativo en la aterogénesis, tal y como se ha reportado previamente (González y col., 2008; Figueira y González, 2008; 2018; 2020; 2022, 2023, 2024). De hecho, diversos estudios, han demostrado una

fuerte relación entre el espesor íntima - media aumentado y las concentraciones séricas de ADMA (Kobayashi y col., 2004; Furuki y col., 2007). Asimismo, estudios prospectivos, demuestran que la ADMA es un predictor de enfermedad arterial coronaria (Furuki y col., 2008) y de mortalidad en pacientes con infarto al miocardio (Zeller y col., 2008). A nivel experimental, se ha descrito que la administración de ADMA a ratones C57BL/6J ocasionó lesiones ateroscleróticas (Xiao y col., 2007) e indujo fibrosis perivascular y engrosamiento de la íntima en la microvasculatura coronaria (Suda y col., 2004). De igual manera, el tratamiento con ADMA en ratones ApoE deficientes fue capaz de ocasionar un aumento en las lesiones ateroscleróticas en la aorta (Xiao y col., 2007). Aún más, se ha descrito que la sobreexpresión de la DDAH1, también conocida como dimetilarginina dimetilaminohidrolasa 1, en modelos de lesión de arteria femoral, fue capaz de mejorar la reparación endotelial, suprimir la formación de la neointima y reducir la infiltración de leucocitos (Konishi y col., 2007), lo cual sugiere que el aumento de los niveles de ADMA podría impactar sobre la aterogénesis mediante la inhibición de los procesos de reparación vascular.

Dada la asociación entre la ADMA y la disfunción endotelial, diversos estudios han investigado los mecanismos por el cual la ADMA puede afectar la formación de lesiones ateroscleróticas; donde se evidencia que esta molécula puede mediar la aterogénesis a través de la reducción de la función de la barrera endotelial, la alteración de la señalización del factor nuclear kappa B (NF- κ B), un factor de transcripción importante en la activación pro-inflamatoria del endotelio; y mediante la reorganización de las fibras de actina,

acelerando la senescencia de las células endoteliales, promoviendo la inflamación endotelial (Dowsett y col., 2020). De igual manera, la evidencia indica que tanto la ADMA como las EROS alteran la señalización del NO, lo que sugiere que podrían interactuar para causar o reforzar el deterioro y la enfermedad vascular (Sydow y col., 2003; Wilcox, 2012). En este sentido, Antoniades y col. (2009) demostraron que los niveles elevados de ADMA sérica se correlacionan de manera positiva con la producción de superóxido, tanto en venas safenas como arterias mamarias internas de pacientes con enfermedad de las arterias coronarias, y los niveles sistémicos de EROS predicen eventos CDV (Vassalle y col., 2012). Por otra parte, se ha descrito que la ADMA puede incrementar la formación de células espumosas, pues el LDL-c aumenta la generación de ADMA (Böger y col., 2000), y éste incrementa la captación de LDLox, sugiriendo un ciclo de retroalimentación positiva, donde las concentraciones de ADMA impulsan la formación de células espumosas (Dowsett y col., 2020). Por consiguiente, la ADMA tiene profundos efectos sobre la función endotelial y la aterosclerosis, reduciendo la integridad endotelial, mientras que incrementa la producción de marcadores inflamatorios y EROS, favoreciendo la aterosclerosis. Por lo tanto, nuestros hallazgos ratifican que la determinación de la ADMA, NO y TBARS constituyen marcadores no invasivos y valiosos de la aterosclerosis, lo cual sugiere que la oxidación y la disfunción arterial juegan un papel relevante en la fisiopatología de esta enfermedad.

La evidencia experimental y clínica demuestra que la suplementación con L-Arg podría constituir una terapia potencial para el tratamiento de enfermedades CDV y

metabólicas. En este sentido, la disfunción de la vía endotelial de la L-Arg-NO, es un mecanismo común por el cual varios factores de riesgo CDV median sus efectos nocivos sobre la pared vascular, entre ellos se encuentran la hipercolesterolemia, la hipertensión, el tabaquismo, la diabetes mellitus, la hiperhomocisteinemia y la inflamación vascular (Böger, 2004).

Diferentes estudios experimentales apoyan los efectos beneficiosos de la suplementación de L-Arg en las enfermedades CDV; en este sentido, la administración oral de este aminoácido en ratas Dahl sal-sensibles ha demostrado prevenir el aumento de la presión arterial inducido por una dieta alta en sal (Chen y col., 1993; Zhou y col., 2001). Sin embargo, este efecto preventivo no se observa en ratas que ya han sido expuestas durante 3 semanas a una dieta alta en sal (Chen y col., 1993), lo cual sugiere que la L-Arg es capaz de prevenir y contrarrestar la hipertensión cuando está en las primeras etapas, ya que cuando las ratas han sido pre-expuestas a una dieta alta en sal durante 3 semanas, su sistema cardiovascular puede haber sufrido cambios estructurales y funcionales, lo que dificulta que la L-Arg tenga el mismo efecto preventivo.

Por otra parte, la evidencia clínica muestra que la suplementación oral aguda de L-Arg mejora la dilatación dependiente del endotelio de la arteria braquial en pacientes con hipertensión esencial (Lekakis y col., 2002), y su administración endovenosa (500 mg/Kg por 30 min) fue capaz de reducir la presión arterial en pacientes sensible e insensibles a la sal (Higashi y col., 1996). En contraste, en un meta-análisis de ensayo controlado y aleatorio, la suplementación

con L-arginina (9 g/día por vía oral) no demostró mejoría sobre los resultados clínicos (mortalidad por todas las causas, reinfarcto de miocardio, reanimación exitosa, shock/edema pulmonar, isquemia miocárdica recurrente y hospitalización por insuficiencia cardíaca) en pacientes con infarcto agudo de miocardio (Sun y col., 2009), ni mejoría en los niveles séricos de NO y ADMA en pacientes con enfermedad CDV y metabólica (Rodrigues-Krause y col., 2018). Por otra parte, en otro meta-análisis se observó que la L-Arg (4 a 24 g/día) fue efectiva, en comparación al placebo, en disminuir la presión arterial sistólica y diastólica en 5,39 mmHg, y 2,66 mmHg, respectivamente (Dong y col., 2011); lo cual sugiere que dichas diferencias sobre la eficacia de la L-Arg podrían ser debidas a la dosis, esquema de tratamiento y características y patologías de la población estudiada.

Por otra parte, algunos estudios experimentales en animales y humanos han demostrado que la administración oral de L-Arg retrasa el proceso aterogénico (Böger y col., 1998; Ignarro y Napoli, 2004); y la coadministración de antioxidantes con L-Arg incrementa dicha respuesta antiaterosclerótica (Ignarro y Napoli, 2004). El mecanismo de acción de la L-Arg es incrementar la producción de NO, mientras que los antioxidantes actúan protegiendo el NO recién formado de la destrucción por EROS. Por lo tanto, la L-Arg es considerada como una terapia prometedora para el tratamiento de enfermedades CDV y metabólicas, mediante la normalización de los niveles de NO y de otros metabolitos; sin embargo, la variabilidad metodológica en las poblaciones estudiadas y las intervenciones limitan la interpretación de la eficacia de la suplementación con L-Arg en diferentes

biomarcadores CDV o de enfermedad metabólica (Rodrigues-Krause y col., 2018).

En el presente estudio, y bajo nuestras condiciones experimentales, se demostró que la administración oral de L-Arg (1,5%, vía oral en el agua) durante 12 semanas, no afectó los niveles basales de ADMA, TBARS y NO, pero fue capaz de revertir significativamente los cambios de las concentraciones séricas de ADMA y NO inducidas por la dieta enriquecida con colesterol, sin afectar significativamente los incrementos séricos de TBARS. En efecto, la administración de L-Arg redujo las concentraciones séricas incrementadas de ADMA, y aumentó los niveles reducidos de NO en los conejos alimentados con una dieta enriquecida con colesterol. Estos hallazgos sugieren que la L-Arg tendría efectos protectores sobre el endotelio, posiblemente restaurando los niveles de NO y ADMA, tal y como se ha descrito en otros estudios (Boger y col., 1995; Clarkson y col., 1996; Boger y col., 1997). En este sentido, Napoli y col. (2004) encontraron que la administración crónica de L-Arg a ratones deficientes de los receptores de LDL produjo un marcado aumento en la expresión de la eNOS. Asimismo, Lee y col. (2020), encontraron que el extracto de la raíz de *Arctium lappa*, planta rica en L-Arg, fue capaz de suprimir la adhesión de monocitos al endotelio vascular inducida por el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) mediante la supresión de la señalización de NF-kB en células endoteliales de la vena umbilical humana (HUVEC). Por otra parte, en un modelo murino de aterosclerosis, este extracto inhibió la infiltración de monocitos inducida por TNF- α en el endotelio vascular y la expresión de genes que codifican para citoquinas inflamatorias entre las que ese incluyen la interleucina 1-beta (IL-1 β),

interleucina-6 (IL-6), TNF- α y proteína quimiotáctica de monocitos tipo 1 (MCP-1) en la aorta de ratones; evidenciándose que la L-Arg es un componente importante de este extracto, y que el mismo fue capaz de inhibir la adhesión de monocitos *in vitro* inducida por TNF- α en células HUVEC (Lee y col., 2020). Por otra parte, Brinkmann y col. (2015), encontraron que la suplementación combinada de arginina (1,5% en 1g de alimento/Kg peso corporal) y estatinas en conejos homocigotos con hiperlipemia hereditaria Watanabe, durante 8 semanas, ocasionó una alta relación arginina/ADMA, y menores lesiones ateroscleróticas en la aorta, lo cual sugiere la eficacia combinada de la L-Arg y la estatina en la aterosclerosis.

Por lo tanto, parte de los efectos beneficiosos de la terapia de la L-Arg encontrados en el presente estudio, se deban probablemente al incremento en la producción de NO; pues existe una mayor disponibilidad de sustrato (L-Arg) para la eNOS, que puede superar la inhibición del ADMA sobre la eNOS (Sydow y col., 2003). De hecho, se ha demostrado que la ADMA directamente afecta a la integridad y función de la vasculatura, dañando las uniones gap, induciendo la migración de células de musculo liso, la formación de células espumosas y la apoptosis de células endoteliales y de músculo liso (Chen y col., 2012). Asimismo, se ha descrito que la ADMA, no sólo inhibe la NOS, también inhibe al transportador de aminoácidos catiónico 1 (CAT1), el cual es el transportador que facilita la captación de Arg y ADMA en las células endoteliales; sin embargo, a concentraciones fisiológicas, la ADMA no puede afectar a dicho transportador; pero, elevadas concentraciones de Arg pueden inhibir la captación de ADMA mediada por CAT1 (Clarkson y col., 1996).

El mantenimiento de niveles elevados de Arg en plasma puede ser problemático debido a su catabolismo por la arginasa; de hecho, se ha descrito que la efectividad de la terapia con Arg podría reducirse en varias enfermedades CDV en los cuales la expresión y actividad de esta enzima intestinal y citosólica están aumentadas. En contraste con la Arg, la citrulina, no es metabolizada en el intestino, ni en hígado, y no induce la arginasa tisular, inclusive inhibe su actividad (Visser y col., 2010). Por otra parte, se ha descrito que el reciclaje de la L-citrulina a L-Arg está localizado en las cavéolas y puede representar la principal fuente para la disponibilidad de la L-Arg (Solomonson y col., 2003). La disponibilidad de la L-Arg citosólica para eNOS puede estar limitada por la captación en las cavéolas; por lo que la administración de un exceso de L-Arg puede crear suficiente gradiente de concentración para que haya más L-Arg disponible para la eNOS. Además, la L-citrulina, el segundo producto de reacción de la NOS, induce relajación dependiente del endotelio en aorta de ratas, acompañado de un incremento en el nitrito tisular y GMPc (Raghavan y Dikshit, 2001), posiblemente debido a que la L-citrulina es convertida en L-Arg en las células endoteliales, siendo el reciclaje de la Arg una fuente importante de este aminoácido para mantener la producción de NO en las células endoteliales, especialmente en situaciones cuando este aminoácido se vuelve limitante, como posiblemente ocurre en la aterosclerosis (Sydow y col., 2003).

A pesar de que en la presente investigación se evidenció una disminución en los niveles de ADMA, y aumento del NO por el tratamiento con L-Arg, este aminoácido no produjo cambios en los niveles de TBARS y generó poco efecto en el grado de las lesiones ateroscleróticas

(no hubo reversión a lesiones iniciales o su ausencia). Esto sugiere que, bajo nuestras condiciones experimentales, la L-Arg *per se* no tiene propiedades antioxidantes, o que la dosis de este aminoácido no haya sido la adecuada para dicha acción. En este sentido, algunos estudios han encontrado respuesta antioxidante cuando la Arg es coadministrada con un antioxidante, o cuando se administra con la citrulina, precursor de la Arg, pues se ha descrito que el reciclaje de L-citrulina a L-Arg en las células endoteliales podría ser el principal mecanismo para mantener la disponibilidad de la L-Arg para la producción de NO por parte de la eNOS (Solomonson y col., 2003). Así, Hayashi y col., en 2005, encontraron que la administración de L-Arg, L-citrulina y/o antioxidantes (vitamina C y E) durante 12 semanas en conejos alimentados con una dieta enriquecida con colesterol, ocasionó una mejoría en la vasorelajación dependiente del endotelio, del flujo sanguíneo, regresión de lesiones ateroscleróticas, disminución en la producción de anión superóxido y de la expresión de genes sensibles a la oxidación, lo cual estuvo asociada con el incremento de la expresión de la eNOS aórtica y de los niveles de NO y GMPc, lo cual indica que la suplementación con sustancias que potencian la producción de NO, como la L-Arg, L-citrulina y antioxidantes puede contrarrestar el estrés oxidativo y revertir la progresión de la aterosclerosis, por lo que, el posible mecanismo antiaterogénico de la suplementación combinada de la L-Arg con la citrulina y antioxidantes se deba al incremento de la producción de NO mediante el aumento en la expresión de la eNOS, y a un aumento en la disponibilidad del sustrato (L-Arg) para la eNOS. Asimismo, Morita y col. (2013), encontraron que la administración oral de L-citrulina (800 mg/día) en pacientes con angina vaso

espástica, durante 8 semanas, ocasionó una disminución significativa de los niveles de ADMA, de LDLox y del receptor tipo 1 de LDLox similar a lectina (LOX-1); y un aumento de la relación L-Arg/ADMA y de los niveles de NO con respecto a sus valores basales; lo que sugiere que la suplementación con L-citrulina, mejora la disfunción endotelial, probablemente potenciando las reacciones dependientes de NO y disminuyendo el estrés oxidativo. Asimismo, Reule y col., 2017, encontraron que la administración durante 4 semanas de Arg y vitaminas (pycnogenol, vitamina B6 y B12 y ácido fólico) en sujetos hipertensos y con hiperhomocisteinemia, mejoró la función endotelial, la presión arterial y los niveles de homocisteína con respecto al grupo placebo.

Por lo tanto, la L-Arg promueve efectos beneficiosos mediante funciones mediadas por el endotelio, como el aumento de la vasodilatación, disminución de la agregación plaquetaria, y la reducción de la adhesión de monocito al endotelio vascular; sin embargo, la eficacia del mismo parece estar relacionada con la presencia de patología (aumento de concentraciones ADMA), y el estadio de la misma (más efectivo en las primeras fases de la enfermedad CDV y metabólica) cuando los cambios funcionales aún son reversibles, mientras que los cambios ateroscleróticos estructurales de la pared vascular pueden ser menos sensibles a la L-Arg. Por lo tanto, la L-arginina tiene un papel como agente nutracéutico en la modificación del deterioro funcional y en la prevención de enfermedades vasculares, pero no como terapia para revertir la aterosclerosis manifiesta (Böger, 2007).

En conclusión, bajo nuestras condiciones experimentales y de acuerdo con los

resultados obtenidos, nuestros hallazgos refuerzan que la ADMA y el NO son marcadores de disfunción endotelial que se encuentran alterados en la aterosclerosis (aumento y reducción, respectivamente); y que su determinación podría ser una herramienta útil en el seguimiento y pronóstico de esta patología. Asimismo, se demostró que la suplementación con L-Arg podría ser útil para disminuir los niveles de ADMA y aumentar los de NO, posiblemente mejorando la disfunción endotelial.

Conflicto de interés

Los autores declaran que no existe conflicto de interés.

Referencias Bibliográficas

- Antoniades C, Shirodaria C, Leeson P, Antonopoulos A, Warrick N, Van-Assche T, Cunningham C, Tousoulis D, Pillai R, Ratnatunga C, Stefanadis C, Channon KM. 2009. Association of plasma asymmetrical dimethylarginine (ADMA) with elevated vascular superoxide production and endothelial nitric oxide synthase uncoupling: implications for endothelial function in human atherosclerosis. *Eur Heart J* 30(9):1142-50.
- Appel D, Böger R, Windolph J, Heinze G, Goetz AE, Hannemann J. 2020. Asymmetric dimethylarginine predicts perioperative cardiovascular complications in patients undergoing medium-to-high risk non-cardiac surgery. *J Int Med Res* 48(8):300060520940450.
- Aslan D. 2011. Biomarkers for diabetic complications: The results of several clinical studies. *J Med Biochem* 30: 207-21.
- Boger R, Bode-Boger S, Brandes R, Phivthong-Ngam L, Böhme M, Nafe R, Mügge A, Frölich J. 1997. Dietary L-arginine reduces the progression of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits: Comparison with lovastatin. *Circulation* 96:1282-90.
- Boger R, Bode-Boger S, Mugge A, Kienke S, Brandes R, Dwenger A, Frölich J. 1995. Supplementation of hypercholesterolaemic rabbits with L-arginine reduces the vascular release of superoxide anions and restores NO production. *Atherosclerosis* 117:273-84.

- Böger R. 2007. The Pharmacodynamics of L-Arginine. *J Nutr* 137: 1650S-5S.
- Böger RH, Bode-Böger SM, Kienke S, Stan AC, Nafe R, Frölich JC. 1998. Dietary L-arginine decreases myointimal cell proliferation and vascular monocyte accumulation in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis* 136(1):67-77.
- Böger RH, Sullivan LM, Schwedhelm E, Wang TJ, Maas R, Benjamin EJ, Schulze F, Xanthakis V, Benndorf RA, Vasan RS. 2009. Plasma asymmetric dimethylarginine and incidence of cardiovascular disease and death in the community. *Circulation* 119(12):1592-600.
- Böger RH, Sydow K, Borlak J, Thum T, Lenzen H, Schubert B, Tsikas D, Bode-Böger SM. 2000. LDL cholesterol upregulates synthesis of asymmetrical dimethylarginine in human endothelial cells: involvement of S-adenosylmethionine-dependent methyltransferases. *Circ Res* 87(2):99-105.
- Böger RH. 2004. Asymmetric dimethylarginine, an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, explains the "L-arginine paradox" and acts as a novel cardiovascular risk factor. *J Nutr* 134(10 Suppl):2842S-2847S.
- Brinkmann SJ, Wörner EA, Buijs N, Richir M, Cynober L, van Leeuwen PA, Couderc R. 2015. The Arginine/ADMA ratio is related to the prevention of atherosclerotic plaques in hypercholesterolemic rabbits when giving a combined therapy with atorvastatin and arginine. *Int J Mol Sci* 16(6):12230-42.
- Cao X, Wu VWY, Han Y, Hong H, Wu Y, Kong APS, Lui KO, Tian XY. 2024. Role of argininosuccinate synthase 1 -dependent L-arginine biosynthesis in the protective effect of endothelial Sirtuin 3 against atherosclerosis. *Adv Sci (Weinh)* 11(12):e2307256.
- Chen PY, St John PL, Kirk KA, Abrahamson DR, Sanders PW. 1993. Hypertensive nephrosclerosis in the Dahl/Rapp rat. Initial sites of injury and effect of dietary L-arginine supplementation. *Lab Invest* 68(2):174-84.
- Chen S, Li N, Deb-Chatterji M, Dong Q, Kielstein J, Weissenborn K, Worthmann H. 2012. Asymmetric dimethylarginine as a marker and mediator in ischemic stroke. *Int J Mol Sci* 13:15983-6004.
- Chin JH, Azhar S, Hoffman BB. 1992. Inactivation of endothelial derived relaxing factor by oxidized lipoproteins. *J Clin Invest* 89: 10-18.
- Clarkson P, Adams M, Powe A, Donald A, McCredie R, Robinson J, McCarthy S, Keech A, Celermajer D, Deanfield J. 1996. Oral L-arginine improves endothelium-dependent dilation in hypercholesterolemic young adults. *J Clin Invest* 97:1989-94.
- Das UN, Repossi G, Dain A, Eynard AR. 2011. L-arginine, NO and asymmetrical dimethylarginine in hypertension and type 2 diabetes. *Front Biosci (Landmark Ed)* 16(1):13-20.
- De Gennaro Colonna V, Bonomo S, Ferrario P, Bianchi M, Berti M, Guazzi M, Manfredi B, Muller EE, Berti F, Rossoni G. 2007. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) induces vascular endothelium impairment and aggravates post-ischemic ventricular dysfunction in rats. *Eur J Pharmacol* 557: 178-85.
- Dong JY, Qin LQ, Zhang Z, Zhao Y, Wang J, Arigoni F, Zhang W. 2011. Effect of oral L-arginine supplementation on blood pressure: a meta-analysis of randomized, double-blind, placebo-controlled trials. *Am Heart J* 162(6):959-65.
- Dowsett L, Higgins E, Alanazi S, Alshuwayer NA, Leiper FC, Leiper J. 2020. ADMA: A Key Player in the Relationship between Vascular Dysfunction and Inflammation in Atherosclerosis. *J Clin Med* 9(9):3026.
- Figueira L, González J. 2008. Efecto del extracto de *Pinus maritime*, Vitamina C y E, sobre la concentración sérica de LDLox, PCR, Selectina-E, IL-6 y formación de ateromas en conejos con dieta hiperlipidémica. *Informe Médico* 10 (10): 593-607.
- Figueira L, González J. 2018. Efecto del resveratrol sobre las concentraciones séricas del factor de crecimiento endotelial vascular durante la aterosclerosis. *Clin Investig Arterioscler* 30(5):209-216.
- Figueira L, González J. 2020. Efecto del resveratrol sobre quimioquinas séricas en la aterosclerosis. *Rev Fac Farm UCV* 83(1,2):7-23.
- Figueira L, González J. 2022. Efecto antiinflamatorio y antioxidante del resveratrol en la aterosclerosis. Papel de la molécula de adhesión celular endotelial plaquetaria 1. *Rev Fac Farma UCV* 85(1,2): 51-66.
- Figueira L, González J. 2023. Papel del receptor de lipoproteína de baja densidad oxidado tipo lectina-1 como marcador sérico de aterosclerosis. *Rev Fac Farmacia* 86 (1,2):93-105.
- Figueira L, González J. 2024. La dimetilarginina asimétrica y el óxido nítrico en la aterosclerosis. Su papel como marcador sérico de la aterosclerosis. *Rev Fac Farm* 87(1,2): 50-61.
- Franceschelli S, Ferrone A, Pesce M, Riccioni G, Speranza L. 2013. Biological functional relevance of asymmetric dimethylarginine

- (ADMA) in cardiovascular disease. *Int J Mol Sci* 14(12):24412-21.
- Furuki K, Adachi H, Enomoto M, Otsuka M, Fukami A, Kumagai S, Matsuoka H, Nanjo Y, Kakuma T, Imaizumi T. 2008. Plasma level of asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a predictor of carotid intima-media thickness progression: Six-Year prospective study using carotid ultrasonography. *Hypertens Res* 31:1185-9.
- Furuki K, Adachi H, Matsuoka H, Enomoto M, Satoh A, Hino A, Hirai Y, Imaizumi T. 2007. Plasma levels of asymmetric dimethylarginine (ADMA) are related to intima-media thickness of the carotid artery: An epidemiological study. *Atherosclerosis* 191:206-10.
- Gimbrone MA Jr, García-Cardena G. 2013. Vascular endothelium, hemodynamics, and the pathobiology of atherosclerosis. *Cardiovasc Pathol* 22(1):9-15.
- González J, Figueira L, Reigosa A. 2008. Selectina-E, VCAM-1, FNT- α , IL-6, PCR y Fibrinógeno plasmático como marcadores de inflamación en la aterosclerosis, en conejos machos Nueva Zelanda, expuestos a una dieta hiperlipidémica. *Salus* 12 (2): 50-57.
- Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. 1982. Analysis of nitrate, nitrite and (15N) nitrate in biological fluids. *Anal Biochem* 126:131-138.
- Hayashi T, Juliet PA, Matsui-Hirai H, Miyazaki A, Fukatsu A, Funami J, Iguchi A, Ignarro LJ. 2005. L-Citrulline and L-arginine supplementation retards the progression of high-cholesterol-diet-induced atherosclerosis in rabbits. *Proc Natl Acad Sci USA* 102(38):13681-6.
- Hernández-Perera O, Lamas S. 1998. Disfunción endotelial en la aterosclerosis: Papel protector de las estatinas. *Nefrología XVIII* (1):100-11.
- Higashi Y, Noma K, Yoshizumi M, Kihara Y. 2009. Endothelial Function and Oxidative Stress in Cardiovascular Diseases. *Circ J* 73: 411-418.
- Higashi Y, Oshima T, Watanabe M, Matsuura H, Kajiyama G. 1996. Renal response to L-arginine in salt-sensitive patients with essential hypertension. *Hypertension* 27(3 Pt 2):643-8.
- Ignarro L, Napoli C. 2004. Novel features of nitric oxide, endothelial nitric oxide synthase, and atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep* 6(4):281-7.
- Ignarro LJ, Buga GM, Wei LH, Bauer PM, Wu G, del Soldato P. 2001. Role of the arginine-nitric oxide pathway in the regulation of vascular smooth muscle cell proliferation. *Proc Natl Acad Sci USA* 27:98(7):4202-8.
- Kielstein JT, Impraim B, Simmel S, Bode-Böger SM, Tsikas D, Frölich JC, Hoepfer MM, Haller H, Fliser D. 2004. Cardiovascular effects of systemic nitric oxide synthase inhibition with asymmetrical dimethylarginine in humans. *Circulation* 109: 172-7.
- Kobayashi K, Akishita M, Yu W, Hashimoto M, Ohni M, Toba K. 2004. Interrelationship between non-invasive measurements of atherosclerosis: Flow-mediated dilation of brachial artery, carotid intima-media thickness and pulse wave velocity. *Atherosclerosis* 173:13-8.
- Konishi H, Sydow K, Cooke JP. 2007. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase promotes endothelial repair after vascular injury. *J Am Coll Cardiol* 13:49(10):1099-105.
- Konya H, Miuchi M, Satani K, Matsutani S, Tsunoda T, Yano Y, Katsuno T, Hamaguchi T, Miyagawa J, Namba M. 2014. Hepatocyte growth factor, a biomarker of macroangiopathy in diabetes mellitus. *World J Diabetes* 5:678-688.
- Konya H, Miuchi M, Satani K, Matsutani S, Yano Y, Tsunoda T, Ikawa T, Matsuo T, Ochi F, Kusunoki Y, Tokuda M, Katsuno T, Hamaguchi T, Miyagawa J, Namba M. 2015. Asymmetric dimethylarginine, a biomarker of cardiovascular complications in diabetes mellitus. *World J Exp Med* 5(2):110-9.
- Krause M, Rodrigues-Krause J, O'Hagan C, De Vito G, Boreham C, Susta D, Newsholme P, Murphy C. 2012. Differential nitric oxide levels in the blood and skeletal muscle of type 2 diabetic subjects may be consequences of adiposity: a preliminary study. *Metabolism* 61(11):1528-37.
- Lee J, Ha SJ, Park J, Kim YH, Lee NH, Kim YE, Hong YS, Song KM. 2020. *Arctium lappa* root extract containing L-arginine prevents TNF- α -induced early atherosclerosis *in vitro* and *in vivo*. *Nutr Res* 77:85-96.
- Lekakis JP, Papathanassiou S, Papaioannou TG, Papamichael CM, Zakopoulos N, Kotsis V, Dagher AG, Stamatelopoulos K, Protogerou A, Stamatelopoulos SF. 2002. Oral L-arginine improves endothelial dysfunction in patients with essential hypertension. *Int J Cardiol* 86(2-3):317-23.
- Liao J, Shin W, Lee W, Clark S. 1995. Oxidized LDL decreases the expression of endothelial nitric oxide synthase. *J Biol Chem* 270: 319-24.
- Morita M, Sakurada M, Watanabe F, Yamasaki T, Doi H, Ezaki H, Morishita K, Miyakawa T. 2013. Effects of Oral L-Citrulline Supplementation on Lipoprotein Oxidation and Endothelial Dysfunction in Humans with Vasospastic Angina.

- Immunol Endocr Metab Agents Med Chem 13(3):214-20.
- Mortensen KM, Itenov TS, Stensballe J, Hillig T, Jensen CAJ, Schønemann-Lund M, Bestle MH. 2024. Changes in nitric oxide inhibitors and mortality in critically ill patients: A cohort study. *Ann Intensive Care* 14(1):133.
- Napoli C, Williams-Ignarro S, De Nigris F, Lerman LO, Rossi L, Guarino C, Mansueto G, Di Tuoro F, Pignalosa O, De Rosa G, Sica V, Ignarro LJ. 2004. Long-term combined beneficial effects of physical training and metabolic treatment on atherosclerosis in hypercholesterolemic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 101(23):8797-802.
- Newsholme P, Homem D, De Vito G, Murphy C, Krause M. 2009. Exercise and possible molecular mechanisms of protection from vascular disease and diabetes: the central role of ROS and nitric oxide. *Clin Sci (Lond.)* 118:341-9.
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Rev Anal Biochem* 95(2):351-8.
- Papageorgiou N, Theofilis P, Oikonomou E, Lazaros G, Sagris M, Tousoulis D. 2023. Asymmetric Dimethylarginine as a Biomarker in Coronary Artery Disease. *Curr Top Med Chem* 23(6):470-480.
- Poeggeler B, Singh SK, Sambamurti K, Pappolla MA. 2023. Nitric Oxide as a Determinant of Human Longevity and Health Span. *Int J Mol Sci* 24(19):14533.
- Raghavan SA, Dikshit M. 2001. L-citrulline mediated relaxation in the control and lipopolysaccharide-treated rat aortic rings. *Eur J Pharmacol* 431(1):61-9.
- Rasmussen C, Moinard C, Martin C, Tricottet V, Cynober L, Couderc R. 2007. L-arginine plus atorvastatin for prevention of atheroma formation in genetically hypercholesterolaemic rabbits. *Br J Nutr* 97:1083-9.
- Reule CA, Goyvaerts B, Schoen C. 2017. Effects of an L-arginine-based multi-ingredient product on endothelial function in subjects with mild to moderate hypertension and hyperhomocysteinemia - a randomized, double-blind, placebo-controlled, cross-over trial. *BMC Complement Altern Med* 17(1):92.
- Rodrigues-Krause J, Krause M, Rocha IMGD, Umpierre D, Fayh APT. 2018. Association of L-Arginine Supplementation with Markers of Endothelial Function in Patients with Cardiovascular or Metabolic Disorders: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients* 11(1):15.
- Solomonson LP, Flam BR, Pendleton LC, Goodwin BL, Eichler DC. 2003. The caveolar nitric oxide synthase/arginine regeneration system for NO production in endothelial cells. *J Exp Biol* 206(Pt 12):2083-7.
- Stary H, Chandler A, Dinsmore R, Fuster V, Glagov S, Insull W, Rosenfield M, Schwartz C, Wagner W, Wesler R. 1995. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the committee on vascular lesions of the council on atherosclerosis. *Am Heart Asso. Circulation* 15:1512-31.
- Suda O, Tsutsui M, Morishita T, Tasaki H, Ueno S, Nakata S, Tsujimoto T, Toyohira Y, Hayashida Y, Sasaguri Y, Ueta Y, Nakashima Y, Yanagihara N. 2004. Asymmetric dimethylarginine produces vascular lesions in endothelial nitric oxide synthase-deficient mice: involvement of renin-angiotensin system and oxidative stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24(9):1682-8.
- Sun T, Zhou WB, Luo XP, Tang YL, Shi HM. 2009. Oral L-arginine supplementation in acute myocardial infarction therapy: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Cardiol* 32(11):649-52.
- Sydow K, Münzel T. 2003. ADMA and oxidative stress. *Atheroscler Suppl* 4(4):41-51.
- Sydow K, Schwedhelm E, Arakawa N, Bode-Böger SM, Tsikas D, Hornig B, Frölich JC, Böger RH. 2003. ADMA and oxidative stress are responsible for endothelial dysfunction in hyperhomocyst(e)inemia: Effects of L-arginine and B vitamins. *Cardiovasc Res* 57(1):244-52.
- Teerlink T, Luo Z, Palm F, Wilcox CS. 2009. Cellular ADMA: regulation and action. *Pharmacol Res* 60(6):448-60.
- Vassalle C, Bianchi S, Bianchi F, Landi P, Battaglia D, Carpeggiani C. 2012. Oxidative stress as a predictor of cardiovascular events in coronary artery disease patients. *Clin Chem Lab Med* 50(8):1463-8.
- Vilcea A, Borta SM, Popețiu RO, Alexandra RL, Pilat L, Nica DV, Pușchiță M. 2024. High ADMA Is Associated with Worse Health Profile in Heart Failure Patients Hospitalized for Episodes of Acute Decompensation. *Medicina (Kaunas)* 60(5):813.
- Visser M, Paulus WJ, Vermeulen MA, Richir MC, Davids M, Wisselink W, de Mol BA, van Leeuwen PA. 2010. The role of asymmetric dimethylarginine and

- arginine in the failing heart and its vasculature. *Eur J Heart Fail* 12(12):1274-81.
- Wang X, He B. 2024. Endothelial dysfunction: molecular mechanisms and clinical implications. *MedComm* 5(8):e651.
- Wilcox CS. 2012. Asymmetric dimethylarginine and reactive oxygen species: unwelcome twin visitors to the cardiovascular and kidney disease tables. *Hypertension* 59(2):375-81.
- Xiao HB, Yang ZC, Jia SJ, Li NS, Jiang DJ, Zhang XH, Guo R, Zhou Z, Deng HW, Li YJ. 2007. Effect of asymmetric dimethylarginine on atherogenesis and erythrocyte deformability in apolipoproteinE-deficient mice. *Life Sci* 81(1):1-7.
- Zeller M, Korandji C, Guillard JC, Sicard P, Vergely C, Lorgis L, Beer JC, Duvillard L, Lagrost AC, Moreau D, Gambert P, Cottin Y, Rochette L. 2008. Impact of asymmetric dimethylarginine on mortality after acute myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 28(5):954-60.
- Zhou MS, Kosaka H, Tian RX, Abe Y, Chen QH, Yoneyama H, Yamamoto A, Zhang L. 2001. L-Arginine improves endothelial function in renal artery of hypertensive Dahl rats. *J Hypertens* 19(3):421-9.

La *Revista de la Facultad de Farmacia* de la Universidad Central de Venezuela, publica trabajos originales, dirigidos a profesionales de Farmacia, Medicina o especialidades conexas. Al ser una publicación arbitrada y semestral, garantiza el rigor académico y la calidad de los artículos publicados, lo que la convierte en una valiosa referencia para profesionales de la salud. La Revista está adscrita al Instituto de Investigaciones Farmacéuticas de la Facultad de Farmacia y se publica bajo el auspicio del Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH) de la UCV.

La Revista de la Facultad de Farmacia es una de las publicaciones pioneras en Venezuela en el campo farmacéutico, siendo editada de manera ininterrumpida por la Facultad de Farmacia de la Universidad de Venezuela desde el año 1959.

Todos los números de la Revista de la Facultad de Farmacia están accesibles en el portal [Saber UCV](#), en el sistema *Open Journal System* (OJS), estando accesibles en línea inmediatamente después de su publicación, sin cargos o barreras de registro. Cada artículo se le adjudica un número de DOI (*Digital Object Identifier*) que le proporciona una identificación única y permanente para cada artículo, facilitando su localización y citación en investigaciones futuras. Además, mejora la visibilidad y accesibilidad de los trabajos publicados, lo que es clave para la difusión académica. La Revista está indizada en REVENCYT, Base de datos LILACS producida por BIREME y LATINDEX, e incluida en el Registro de Publicaciones Científicas y Tecnológicas del FONACIT y de ASEREME.

Los manuscritos enviados a la Revista de la Facultad de Farmacia —escritos en español o en inglés—, son revisados por el Comité Editorial y si reúnen la calidad científica y cumplen con las normas de

presentación necesarias, son sometidos a un proceso de arbitraje externo, doble ciego, por personas con competencias similares a las de los productores del trabajo (pares) para su debida evaluación, quienes evalúan la relevancia, originalidad y claridad del documento antes de su publicación. Los árbitros pueden recomendar aceptar el manuscrito, solicitar revisiones o rechazarlo si no cumple con los estándares científicos. Una vez finalizado el proceso de arbitraje el Comité Editorial le corresponde la tarea de tomar la decisión final con base en sus recomendaciones, equilibrando aspectos científicos y editoriales. Queda entendido que el Comité Editorial puede rechazar un manuscrito, sin necesidad de acudir al proceso de arbitraje, si se incumple con lo mencionado. Además, los autores tienen derechos sobre su trabajo, incluyendo la atribución y el uso bajo una licencia Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es>), lo que les permite compartir su investigación sin fines comerciales.

FORMA Y PREPARACIÓN DE LOS MANUSCRITOS

Para la publicación de trabajos científicos en la Revista de la Facultad de Farmacia, los mismos estarán de acuerdo con los requisitos originales para su publicación en revistas biomédicas, según el Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas (2012, 2013¹). Además, los editores asumen que los autores de los artículos conocen y han aplicado en sus estudios la ética de experimentación (Declaración de Helsinki, y el Código de Bioética y Bioseguridad, 2da. edición, 2002,

¹ http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html;
http://bvs.sld.cu/revistas/recursos/vancouver_2012.pdf

del Ministerio de Ciencia y Tecnología y el Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología.

PRESENTACIÓN Y CONSIGNACIÓN DEL MANUSCRITO

El autor principal debe remitir la carta de presentación, la primera hoja y el *corpus* del manuscrito en documentos separados, pero en un mismo archivo.

En carta dirigida al Editor de la Revista de la Facultad de Farmacia, los autores proponen la evaluación de los méritos del documento para ser publicado en la Revista de la Facultad de Farmacia. El autor(es) debe(n) declarar que la obra presentada no ha sido publicada, y que no está bajo consideración en otra publicación, periódica o no. Esta carta debe mencionar el título del estudio. Todo artículo de investigación en humanos o animales de experimentación debe ser consignado con la carta de aprobación del comité de ética de la institución donde fue llevado a cabo.

Los manuscritos deben ser enviados a los correos de contacto indicados en http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_ff/about/contact o directamente al correo del editor: astern88@gmail.com. Deben estar en formato Word, en hoja tamaño carta a doble espacio, con letra Arial 12. Asegúrese de que no haya dobles espacios en blanco a lo largo del texto.

Todas las páginas deben ser numeradas correlativamente, empezando por el título. El número de la página deberá colocarse en el ángulo superior derecho de cada página. Su longitud no debe exceder de veinte páginas, excluyendo el espacio destinado a

figuras, tablas y leyendas. Cada uno de los componentes del original deberá comenzar en página aparte, en la secuencia siguiente:

- a. Página del título, nombre completo de(l) (los) autor(es), su filiación institucional y su email. Todo autor debe declarar su número ORCID².
 - b. Resumen y palabras clave.
 - c. Texto (Introducción, materiales y métodos, resultados, discusión, conclusiones y recomendaciones).
 - d. Agradecimientos. Se describirán los agradecimientos a personas e instituciones, así como los financiamientos.
 - e. Conflicto de interés. Debe declararse la existencia o no de conflicto de interés por el autor o los autores del estudio.
 - f. Referencias bibliográficas.
 - g. Tablas: cada una de las tablas en páginas aparte, completas, con título en la parte superior y llamadas al pie de la tabla.
 - h. Figuras: cada una en página aparte con su título en la parte inferior.
 - i. Leyenda de las figuras.
1. La **página del título** deberá contener: Título del artículo en español e inglés, conciso e informativo, no mayor de veinte palabras. Primer nombre e inicial del segundo nombre y apellido(s) de los autores (con una llamada para identificar al pie de página al autor responsable de la correspondencia, indicando su dirección electrónica). Afiliación

² <https://orcid.org/>

institucional y número de ORCID de cada uno de los autores.

2. La segunda página debe contener un resumen en español e inglés, con un máximo de 250 palabras. El texto debe dar una visión general del trabajo, señalar meramente el propósito, los métodos y los hallazgos. No se deben citar referencias. El resumen debe hacer énfasis en los aspectos nuevos e importantes del estudio o de las observaciones. Inmediatamente después del resumen, proporcionar o identificar como tales 3 a 10 palabras clave que ayuden a los indexadores en la construcción de índices cruzados de su artículo y que puedan publicarse con el resumen; utilice los términos del encabezamiento temático [Medical SubjectHeading (Mesh)] del Index Medicus.
3. En cuanto al **texto**, debe dividirse en: Introducción, materiales y métodos, resultados, discusión, conclusiones y recomendaciones. La introducción debe contener lo esencial para situar el problema y la justificación del trabajo utilizando las referencias más relevantes. Los materiales y métodos deben contener la descripción breve y clara que permita la comprensión y la reproducibilidad del trabajo. En caso de técnicas y métodos clásicos ya publicados, se debe indicar sólo la referencia. Los resultados deben ser presentados en forma clara y precisa, con un mínimo de discusión o interpretación personal. Todas las figuras y tablas deben ser citadas en el texto. La discusión debe ser restringida a la interpretación de los resultados y eventualmente a comparar con

los resultados de otros autores. Las conclusiones pueden ser incluidas dentro de la discusión; sin embargo, se puede hacer una sección aparte, indicando de forma clara y concisa los nuevos hallazgos. Se pueden incluir recomendaciones de aplicación práctica. Los agradecimientos deben hacerse a las personas o instituciones que han hecho contribuciones al estudio.

4. Referencias bibliográficas: Serán citadas de acuerdo con el sistema de citación correspondiente al estilo APA (American Psychological Association).

Las referencias mencionadas en el texto deben citarse de la siguiente manera:

Un autor: «...fueron publicadas por González (1968)» o bien, «Se han publicado las características de... (González, 1968)».

Dos autores: ...Álvarez y Martínez (1986),... (Álvarez y Martínez, 1987)

Tres o más autores: ...Martínez y col. (1986), ...(Martínez y col., 1986)

Use las letras para distinguir entre varios trabajos del mismo autor o autores y año: ...(González y Pérez, 1990a,b).

Utilice punto y coma para separar a los autores de diversos trabajos y colóquelos en orden cronológico: (Mijares, 1975; Brenes y Rodríguez, 1961; Zimmermann y col., 2003).

La lista de referencias bibliográficas llevará por título «**Referencias bibliográficas**» y será ordenada alfabéticamente por el apellido del primer autor, manteniendo las estructuras mostradas en los siguientes ejemplos, dependiendo del tipo de

bibliografía. Deberán citarse todos los autores de cada referencia.

Artículo en revista:

Ávila JL. 1983. New national approaches to Chagas disease chemotherapy. *Interciencia* 8: 405-417.

Ávila JL, Ávila A, Muñoz E. 1981. Effect of allopurinol on different strains of *Trypanosomacrusi*. *Am J TropMed Hyg* 39(3): 769-774.

Libros:

Hermanson G. *Bioconjugate Techniques*. 2da ed. Elsevier: San Diego, Ca, USA, 2008.

Capítulos en libros:

Peters W, Robinson B. Parasitic infection models. In: *Handbook of antimalarial models of infection*. Eds: Zak O, Sande M. Academic Press: London, 1999. pp. 757-773.

Berry EP, Croton. In: *Flora of the Venezuelan Guayana*. Vol. 5: *Eriocaulaceae-Lentibulariaceae*. Eds: Berry P, Yatskievich K, Holst B. Missouri Botanical Garden Press: USA, 1999. pp. 111-133.

Tesis o trabajos de ascenso:

Rodríguez Caballero RL. Contribución al estudio de targuá (*Croton gossypifolius* Vahl). Tesis de Licenciatura. Universidad de Costa Rica, Facultad de Ciencias, San José, Costa Rica, 1946.

Resúmenes en congresos:

Muelli M. Cosméticos ecológicos y naturales ¿garantía para los consumidores?. XVIII Congreso Latinoamericano e Ibérico

de Químicos Cosméticos. COLAMIQC, Guatemala, 2007.

5. Tablas: todas deben estar citadas en el texto, en mayúscula y sin abreviar (Ejemplo: Tabla I) deben presentarse en páginas separadas, a espacio sencillo, y numeradas correlativamente en números romanos con el título en la parte superior. No se debe duplicar material del texto o de las figuras. En caso necesario coloque material explicativo en notas al pie de la tabla y no en el encabezamiento; explique en notas al pie de la tabla las abreviaturas no estandarizadas o utilizadas; identifique claramente las variables tales como desviación estándar y error estándar de la media; cite cada tabla en orden correlativo dentro del texto; cite la fuente de información al pie de la tabla si ésta no es original.

6. Figuras: todas deben estar citadas en el texto, en mayúscula y sin abreviar (Ejemplo: Figura 1, Figuras 2 y 3). Estas deben ser de buena calidad, incrustadas en el texto con su leyenda, o bien en archivos aparte en formato .jpg a una resolución de 300 ppp, en cuyo caso deberán estar identificadas con el número de la figura y el apellido del autor principal (Ejemplo: Figura 1-Matos.jpg). En este último caso las leyendas de las figuras deberán presentarse en página aparte a espacio sencillo colocando el número que corresponde a cada figura. Las fotografías de especímenes anatómicos, de lesiones o de personas, deberán tener suficiente nitidez como para identificar claramente los detalles importantes. En caso de fotografías de personas evite que el sujeto sea

identificable, o acompañe de la autorización escrita de la misma. Cuando se usen símbolos y fechas, números o letras para identificar partes en las figuras, identifíquelas y explique cada una en la leyenda. Si se trata de fotomicrografía, indique la escala e identifique el método de coloración.

7. Fórmulas y ecuaciones: deben presentarse claramente para su reproducción.

Lista de comprobación de preparación de envíos:

Como parte del proceso de envío, se les requiere a los autores que indiquen que su envío cumpla con todos los siguientes elementos, y que acepten que envíos que no cumplan con estas indicaciones pueden ser devueltos al autor.

1. La petición no ha sido publicada previamente, ni se ha presentado a otra revista (o se ha proporcionado una explicación en Comentarios al editor).

2. El fichero enviado está en formato Microsoft Word.
3. Se han añadido direcciones web para las referencias donde ha sido posible.
4. El texto tiene interlineado doble; el tamaño de fuente es 12 puntos; se usa cursiva en vez de subrayado (exceptuando las direcciones URL).
5. El texto cumple con los requisitos bibliográficos y de estilo indicados en las Normas para autores.

DECLARACIÓN DE PRIVACIDAD

Los nombres y direcciones de correo-e introducidos en esta revista se usarán exclusivamente para los fines declarados por esta revista y no estarán disponibles para ningún otro propósito u otra persona.