

Actividad antiproliferativa y estrogénica de un extracto de *Ginkgo biloba* L. en ratas con hiperplasia prostática benigna

Anti-proliferative and estrogenic activity of a *Ginkgo biloba* L. extract in rats with benign prostatic hyperplasia

Luz Irene Pascual Mathey,^I Enrique Juárez Aguilar,^{II} Salma Dahí López Lara,^I José Locia Espinoza,^I Juana Ramírez Aguilera,^I Clara Elena Yerena Aguilar^I

^I Facultad de Química Farmacéutica Biológica, Universidad Veracruzana. Veracruz, México.

^{II} Instituto de Ciencias de la Salud. Veracruz, México.

RESUMEN

Introducción: La hiperplasia prostática benigna (HPB) se caracteriza por la proliferación no cancerosa de las células prostáticas en los hombres de edad avanzada. Las estrategias terapéuticas actuales, aunque efectivas, pueden provocar efectos adversos. El extracto estandarizado de *Ginkgo biloba* L. (EGb, Vasodil®) es un fitomedicamento que ha demostrado poseer actividad estrogénica y antiproliferativa en diferentes líneas de cáncer.

Objetivo: Evaluar la eficacia del extracto en un modelo de hiperplasia inducido mediante la administración de propionato de testosterona (PT).

Métodos: Se utilizaron 42 ratas macho de la línea Wistar con 250-300 g de peso. Las ratas fueron distribuidas en 7 grupos de 6 individuos cada uno: 1) grupo control (agua estéril [10 U, v.o.], y aceite mineral [10 U, s.c.]), 2) HPB (PT, 3 mg kg⁻¹ día, s.c.), 3) FT (PT y finasterida [10 mg kg⁻¹ día, v.o.]), 4-7) EGb (PT y EGb 40, 80, 160 y 320 mg kg⁻¹ día, v.o.). Las ratas se pesaron semanalmente durante el tratamiento. Después de 4 semanas, se obtuvo la sangre mediante punción cardiaca para cuantificar el estradiol (Kit Calbiotech); se pesó la próstata y se separó en sus lóbulos ventral [PV] y dorsolateral [PDL]. Una sección se utilizó para el análisis histológico utilizando la técnica de hematoxilina y eosina (H & E), la otra sección se homogeneizó para analizar la expresión del antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA) mediante western blot.

Resultados: La administración del EGb [160 mg/kg⁻¹] redujo notablemente tanto el peso en fresco como la expresión del antígeno nuclear de proliferación celular en la próstata dorsolateral de las ratas con inducción de hiperplasia prostática benigna, efecto que se relacionó con la disminución de las concentraciones séricas de estradiol y con la morfología alveolar prostática.

Conclusiones: Se evaluó la eficacia del extracto de *Ginkgo biloba* L. y se demostró su actividad antiproliferativa y estrogénica en un modelo de hiperplasia prostática benigna.

Palabras clave: *Ginkgo biloba* L.; hiperplasia prostática benigna; prevención; fitomedicamento.

ABSTRACT

Introduction: Benign prostatic hyperplasia (BPH) is characterized by noncancerous proliferation of prostate cells in men of advanced age. Current therapeutic strategies, though effective, can cause adverse effects. The standardized *Ginkgo biloba* L. extract (EGb, Vasodil®) has shown to have estrogenic and anti-proliferative activity on different cancer lines.

Objective: Evaluate the efficacy of the extract in a model of hyperplasia induced by administration of testosterone propionate (TP).

Methods: The study sample was 42 male Wistar rats weighing 250-300 g. The rats were divided into 7 groups of 6 individuals each: 1) control group (sterile water [10 U, v.o.] and mineral oil [10 U, s.c.]); 2) BPH (TP, 3 mg kg⁻¹ day, s.c.); 3) FT (TP and finasteride [10 mg kg⁻¹ day, v.o.]); 4-7) GbE (TP and GbE 40, 80, 160 and 320 mg kg⁻¹ day, v.o.). The rats were weighed weekly during the treatment. After 4 weeks, blood was obtained by cardiac puncture for estradiol quantitation (Kit Calbiotech). The prostate was weighed and split into its ventral [PV] and dorsolateral [PDL] lobes. One section was used for histological analysis by hematoxylin and eosin (H&E) staining. The other section was homogenized for analysis of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) expression by western blot.

Results: Administration of Gb extract [160 mg kg⁻¹] significantly reduced fresh weight and proliferating cell nuclear antigen expression in the dorsolateral prostate lobe of rats with induced benign prostatic hyperplasia, an effect correlated with reduced serum estradiol concentrations and prostate alveolar morphology.

Conclusions: Evaluation was conducted of the efficacy of the *Ginkgo biloba* L. extract, and its anti-proliferative and estrogenic activity was shown in a model of benign prostatic hyperplasia.

Key words: *Ginkgo biloba* L., benign prostatic hyperplasia, prevention, phytomedicine.

INTRODUCCIÓN

La hiperplasia prostática benigna (HPB) es el crecimiento no canceroso de la glándula prostática causado por un aumento de la proliferación del epitelio glandular. La frecuencia de este padecimiento aumenta progresivamente a partir de los 40 años de edad, es considerada una de las enfermedades benignas más comunes en el hombre y puede ocasionar síntomas del tracto urinario inferior (STUI).¹ Las causas de este padecimiento son multifactoriales;² sin embargo, *Gonzales* y otros reportaron que la presencia de los andrógenos es fundamental para su desarrollo,³ por eso los principales tratamiento se basan en el uso de fármacos antiandrogénicos como la finasterida.⁴ No obstante, *Cote* y otros demostraron que estos medicamentos, a pesar de disminuir el volumen prostático, no disminuyen los niveles de expresión del antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA), marcador empleado comúnmente para evaluar la proliferación celular en las muestras de tejidos sanos y malignos.^{5,6} Además, estos fármacos ocasionan efectos adversos a largo plazo, tales como disfunción eréctil e impotencia sexual.⁷ Por otro lado, el uso de *Ginkgo biloba* L. (*G. biloba*), fitomedicamento empleado en

la medicina tradicional para prevenir el alzhéimer y mejorar la agudeza mental,⁸ ha demostrado tener efecto estrogénico y antiproliferativo en diversos modelos de cáncer como el cáncer de mama, hepático y colorrectal, por lo que se prescribe como una opción para el tratamiento de esta enfermedad.^{6,9-12} En relación con la próstata, Biggs y otros demostraron que el extracto estandarizado obtenido a partir de esta planta fue capaz de disminuir el riesgo de padecer cáncer de próstata.¹³

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la eficacia del extracto de *Ginkgo biloba* L EGb en un modelo de hiperplasia inducido por la administración de propionato de testosterona (PT).

MÉTODOS

Animales

Se utilizaron ratas macho adultas de la línea Wistar (250-300 g de peso corporal) las cuales se mantuvieron en condiciones estándar de laboratorio dos semanas previas al inicio de los experimentos con acceso a agua y alimento *ad libitum* en un ciclo luz-oscuridad invertido (12 h). Todos los procedimientos se realizaron de acuerdo con la NOM-062-ZOO-1999 en su apartado "Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio".¹⁴

Extracto de *G. biloba* (EGb)

El EGb (VASODIL[®]) es un extracto natural obtenido de las hojas verdes desecadas del árbol *G. biloba*. Cada mililitro contiene 40 mg de extracto seco de *G. biloba* estandarizado a 9,6 mg de glucósidos flavonoides, calculados como quercetina y camferol. Se fabrica en México con licencia del Dr. Wilmar Schwabe por la firma Nycomed S.A. de C.V.[®]. Número de registro del medicamento: 178M89 SSA IV. Clave de IPPA: LPAR-07330022040176/RM2007.

Procedimiento experimental: inducción de la hiperplasia prostática benigna (HPB)

Se indujo la HPB mediante la administración subcutánea de propionato de testosterona (PT) ([TestoVet[®]], 3 mg/kg⁻¹). Después de una semana de administración, las ratas fueron distribuidas en siete grupos (n= 6) con los siguientes tratamientos: 1) el grupo control (CTRL) recibió agua estéril (v.o., 10 U) y aceite mineral (s.c., 10 U); 2) el grupo experimental (HPB) recibió agua estéril (v.o., 10 U) y PT (s.c.); 3) el grupo control positivo (FT) recibió finasterida [MediMart] 10 mg/kg⁻¹ (v.o.) y PT (s.c.); 4-7) los grupos experimentales tratados (EGb) recibieron EGb ([Vasodil] en dosis de 40, 80, 160 y 320 mg/kg⁻¹/día [v.o.] y PT [s.c.], respectivamente).⁶ Los tratamientos se administraron una vez al día durante 1 mes y las ratas se pesaron semanalmente. Todos los animales se mantuvieron en ayunas durante 24 h y fueron eutanizados con pentobarbital sódico al 6,3 % ([Pisabental], 50 mg/kg⁻¹, i.p.). Se extrajo sangre por punción cardiaca, se separó el suero, el cual se mantuvo a -20 °C para el posterior análisis de los niveles de estradiol (E), y la próstata, la cual se pesó y dividió en sus lóbulos ventral (PV) y dorsolateral (PDL). El peso prostático relativo fue estimado mediante la proporción del peso de la próstata en relación con el peso corporal. Cada lóbulo se separó en dos secciones, la parte derecha se fijó utilizando formalina al 10 % e incluyó en parafina. Se realizaron cortes de 5 µm de grosor con un micrótopo (A202, Ecoshel) y se montaron en portaobjetos. Los cortes se tiñeron utilizando la técnica de Hematoxilina y Eosina (H & E), se observaron al

microscopio, se tomaron tres fotografías por cada laminilla con ayuda de una cámara digital (Sony Cyber-Shot, 10MP). Se utilizó el objetivo de 4X (Zoom 2X). La parte izquierda fue almacenada a -80 °C para analizar la expresión del PCNA.

Cuantificación de las proteínas y de la expresión del antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA)

El tejido fue homogeneizado con 200 µL de amortiguador de lisis RIPA (TRIS 50 mM, NaCl 150 mM, EDTA disódico 1 mM, SDS 0,1 %, deoxicolato de sodio 0,5 % y NP-40 0,5 %, y PMSF 1 %) previa pulverización en un mortero de las muestras congeladas en nitrógeno líquido. El homogenizado se incubó por 10 min a 4 °C y se centrifugó a 6 000 r.p.m. durante 30 min a 4 °C. La concentración de proteínas en el sobrenadante se determinó por el método de Bradford. Se desnaturalizaron cantidades iguales de muestra, correspondientes a 50 µg de proteínas totales a 95 °C durante 5 min en baño María, se corrieron a 100 V en un gel de poliacrilamida con SDS al 4 % en condiciones reductoras (Mini-Protean III, Bio-Rad) y después fueron transferidas a una membrana de nitrocelulosa (0,45 µm, 162-0115 Bio-Rad) en el equipo Mini-Protean III, Bio-Rad durante 1,5 h y 100 V, la cual fue bloqueada con TBS (Tween 20 al 0,1 % y leche descremada al 5 %) por espacio de 1 h. A continuación, la membrana se lavó con solución de TBS-Tween 20 durante 5 min y se incubó toda la noche a 4 °C con el anticuerpo antiantígeno de proliferación celular (PCNA; F-2 sc-25280, Santa Cruz CA, EUA, dilución 1:500). Transcurridas 24 h, la membrana se lavó con TBS-Tween y se incubó con el anticuerpo secundario por 1 h a temperatura ambiente (PI-2000, Vector CTR, dil.1:1000). Las bandas se revelaron empleando un kit quimioluminiscente (Lumigol). Como control de carga se utilizó actina (C-11 sc-1615, Santa Cruz CA, USA, dilución 1:1000).^{15,16}

Análisis densitométrico

Se midió la quimioluminiscencia en un fotodocumentador (SynGene) y se analizó posteriormente con el uso del software Image J. Los valores de las densidades obtenidas de las bandas de PCNA se dividieron entre las densidades de las bandas de actina para obtener la densidad relativa de cada grupo. Dichos resultados fueron graficados y analizados estadísticamente.¹⁶

Determinación de las concentraciones de estradiol (E)

Para determinar las concentraciones séricas de E se utilizó un kit comercial (ES180S-100, Calbiotech).¹⁷ Del suero almacenado, así como de los reactivos del kit comercial (estándar y control), se colocaron 25 µL en cada pozo de la microplaca previamente recubierta con un anticuerpo policlonal anti-estradiol. Inmediatamente después, se adicionaron 100 µL de reactivo de trabajo, se agitó la placa de 15 a 20 s y se incubó durante 2 h a temperatura ambiente, se decantó y se cubrió con 100 µL de sustancia amortiguadora de lavado. Se dejó secar y se adicionaron 100 µL de 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) en cada pozo, se agitó por espacio de 10 s y se incubó a temperatura ambiente durante 30 min. Posteriormente se adicionaron 50 µL de solución de parada y se mezcló durante 30 s, se observó un cambio de color de azul a amarillo. La lectura de absorbancias a 450 nm se realizó en un lector de microplacas (iMARK™, Biorad). La concentración de E en cada muestra (pg/mL) se determinó mediante regresión lineal en una hoja de cálculo de Microsoft Excel.

Análisis estadístico

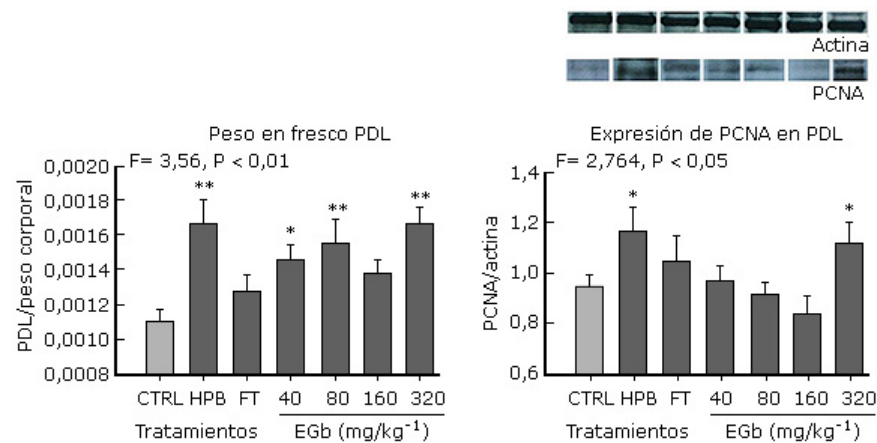
Los datos de cada parámetro se sometieron a un diseño de tratamientos sin estructura. Una vez comprobados los supuestos de normalidad y

homogeneidad de varianzas, las diferencias estadísticas se determinaron mediante un análisis de varianza (ANOVA). Cuando el análisis mostró diferencias significativas entre los grupos, los datos se analizaron empleando la comparación de medias Fisher LSD. La significancia estadística se consideró cuando $p < 0,05$ y $p < 0,01$.

RESULTADOS

Peso en fresco y expresión del PCNA en la próstata dorsolateral (PDL)

La administración de PT durante un periodo de 5 semanas causó el incremento significativo del peso en fresco de la PDL en el grupo HPB al compararlo con el grupo control, el cual recibió solamente agua estéril y aceite mineral ($p < 0,01$), el mismo efecto que se observó en el grupo tratado con PT y EGb en la dosis de 40 ($p = 0,012$), 80 ($p < 0,01$) y 320 mg/kg^{-1} ($p < 0,01$). En los grupos tratados con PT y con finasterida no se observaron diferencias en relación con el grupo control, al igual que en el grupo tratado con EGb en una concentración de 160 mg/kg^{-1} (Fig. 1A). Del mismo modo, el análisis de la expresión de PCNA en la PDL mostró un aumento significativo en el grupo tratado con PT ($p = 0,032$) y con EGb en concentración de 320 mg/kg^{-1} ($p = 0,048$), no se observó este incremento en los grupos tratados con finasterida y EGb en dosis de 40, 80 y 160 mg/kg^{-1} (Fig. 1B). Este efecto se puede corroborar con la observación de la muestra histológica, la cual confirma un incremento evidente en el perímetro alveolar de los tejidos cuando se administran PT y EGb en dosis de 320 mg/kg^{-1} , mientras que en los tejidos de los grupos control y de los tratados con finasterida y EGb en dosis de 40 a 160 mg/kg^{-1} se muestra un perímetro alveolar menor (Fig. 2).



Las barras representan la media \pm EE.

**Diferencias significativas con $p < 0,01$ comparado con el grupo control.

*Diferencias significativas con $p < 0,05$ comparado con el grupo control.

Fig. 1. Peso en fresco y expresión de PCNA en la PDL.

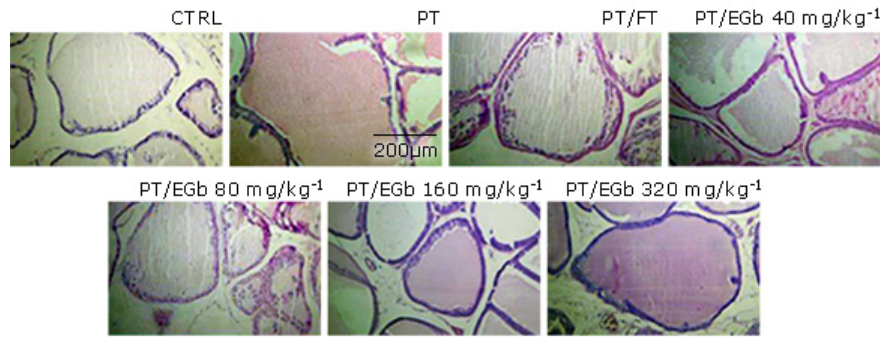
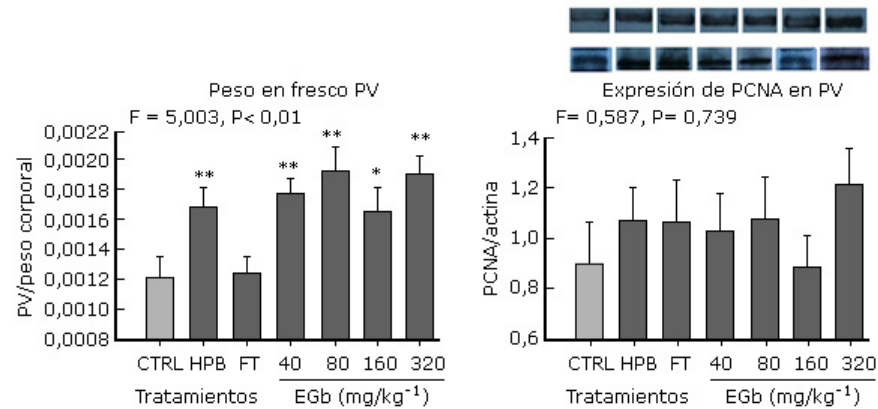


Fig. 2. Histopatología de la PDL.

Peso en fresco y expresión del PCNA en la próstata ventral (PV)

La administración de PT durante 5 semanas mostró el incremento significativo del peso en fresco en los grupos HPB ($p= 0,01$) y en aquellos tratados con EGb en dosis de 40 ($p < 0,01$), 80 ($p < 0,01$), 160 ($p = 0,014$) y 320 mg/kg^{-1} ($p < 0,01$) en relación con el grupo control. Este efecto no se observó en el grupo tratado con PT y finasterida (Fig. 3A). Lo anterior se relaciona con la expresión del PCNA. No se observaron diferencias significativas entre los diferentes grupos ($F = 0,587$, $p = 0,739$) (Fig. 3B). El análisis histológico revela que solo en el grupo tratado con PT y finasterida se puede observar un perímetro alveolar similar al observado en el grupo control (Fig. 4).



Las barras representan la media ± EE.

**Diferencias significativas con $p < 0,01$ comparado con el grupo control.

*Diferencias significativas con $p < 0,05$ comparado con el grupo control.

Fig. 3. Peso en fresco y expresión de PCNA en la PV.

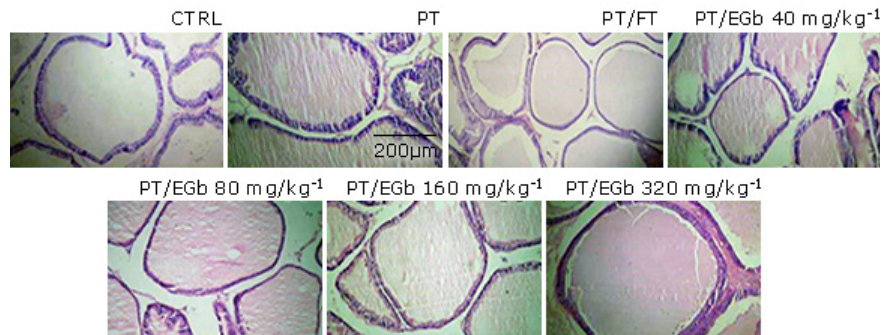
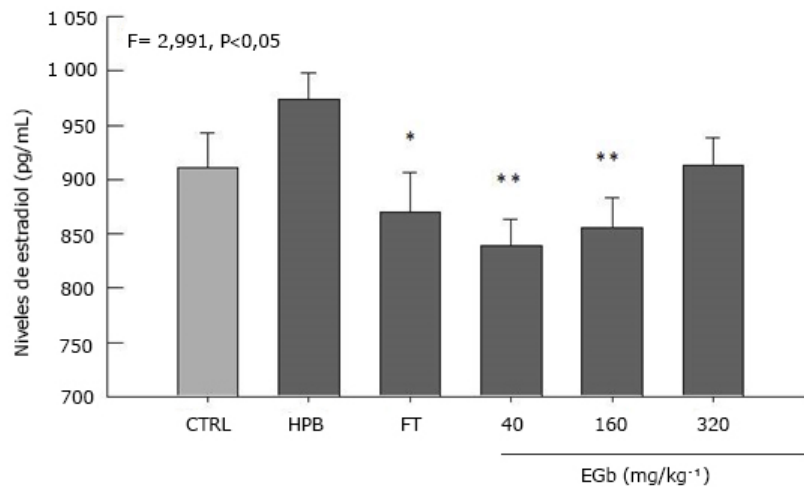


Fig. 4. Histopatología de la PV.

Concentraciones de estradiol (E) en el suero

Con el objetivo de poder elucidar el efecto estrogénico del EGb empleado en este modelo, se determinaron los niveles de E en los diferentes grupos experimentales y se observó una disminución significativa al comparar los grupos tratados con EGb en dosis de 40 y 160 mg/kg⁻¹ ($p < 0,01$) en relación con el grupo tratado con PT ($F = 2,991$, $p = 0,011$), efecto similar al que se observa con la administración de finasterida ($p = 0,016$) sin observarse esta disminución con la concentración de 320 mg/kg⁻¹ (Fig. 5)



Disminución significativa en los grupos tratados con finasterina (FT) y EGb en dosis de 40 y 160 mg/kg⁻¹ en relación con el grupo HPB. Las barras representan la media ± EE. **diferencias significativas con $p < 0,01$ comparado con el grupo HPB; *diferencias significativas con $p < 0,05$ comparado con el grupo HPB.

Figura 5. Niveles séricos de estradiol.

DISCUSIÓN

El EGb es un conocido fitomedicamento obtenido de la especie *G. biloba*, planta que ha sido utilizada durante miles de años para tratar y prevenir diferentes enfermedades, entre ellas el cáncer. Aunque está formado por una mezcla de más de 300 compuestos, los glucósidos flavonoides, principalmente camferol y quercetina, se piensa que son responsables del potencial fitoestrogénico atribuido a *G. biloba*.¹⁸ Además, estudios previos han demostrado que puede ser empleado como agente quimiopreventivo eficaz debido a sus propiedades

antiproliferativas y apoptóticas reportadas en varios modelos *in vitro* de cáncer.¹²

En este trabajo se evaluó el efecto de un extracto comercial de *G. biloba* (EGb) sobre el peso en fresco y la expresión del antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA) en un modelo de hiperplasia prostática benigna, inducida mediante la administración de propionato de testosterona (PT) en ratas macho de la línea Wistar.⁶ Con el objetivo de poder elucidar su actividad estrogénica, también se analizaron las concentraciones séricas de estradiol en la sangre obtenida por punción cardiaca, una vez concluido el periodo de tratamiento. En los resultados se observó que, en comparación con el grupo control, en los sujetos que solo recibieron PT hubo un aumento considerable del peso en fresco de la próstata dorsolateral (PDL). Este aumento no se observó en la próstata de sujetos que recibieron, además, finasterida y EGb en concentración de 160 mg/kg⁻¹. Es interesante notar que esta disminución no se observó en la próstata ventral (PV). Además, el análisis densitométrico de la relación de PCNA/actina en la PDL mostró que la expresión del PCNA disminuyó notablemente en los grupos tratados con EGb en concentraciones de 40, 80 y 160 mg/kg⁻¹ sin observarse cambios en la PV.

Para inducir la hiperplasia prostática benigna (HPB) se administraron 3 mg/kg⁻¹ de PT, dosis establecida como modelo para provocar la hiperplasia, que evoluciona con incremento de la proliferación epitelial-estromal y aumento de la expresión del PCNA.^{6,19} En este estudio se mostró que unido a la disminución del volumen prostático, en los sujetos tratados con EGb disminuyó la proliferación celular a partir de la dosis de 40 mg/kg⁻¹ y se observó la mayor reducción en dosis de 160 mg/kg⁻¹, lo que indica un efecto dependiente de la dosis.^{20,21} Lo anterior coincide con lo reportado por *Birks* y otros, quienes mostraron que dosis menores que 200 mg/kg⁻¹ son seguras para mejorar las funciones neurales relacionadas con la cognición y el aprendizaje,²² y las dosis efectivas son las que van de 40 a 240 mg/kg⁻¹.²³ Lo anterior indica que la dosis de 160 mg/kg⁻¹ fue segura y efectiva para disminuir tanto el peso en fresco como la expresión del antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA) en la próstata dorsolateral, y no se observó efecto con la dosis de 320 mg/kg⁻¹, probablemente debido a una saturación de los sitios de acción de los fitocomponentes del EGb, lo cual corrobora que el EGb empleado en este estudio es efectivo en las dosis previamente mencionadas.²²⁻²⁴

De los mecanismos propuestos según los cuales el EGb disminuye la proliferación celular, *Peng* y otros plantean que podría deberse a su actividad fitoestrogénica.²⁵ Al analizar las concentraciones séricas de estradiol se observó una disminución significativa en los grupos tratados con EGb en relación con el grupo tratado con PT, efecto que podría estar indicando una disminución de la actividad de la enzima aromatasas, responsable de la conversión de testosterona (T) a estradiol (E), lo cual ocasiona la disminución de la proliferación celular prostática observada. En este sentido, se conoce que el estradiol influye en la proliferación de células del estroma mediante un aumento en la expresión de receptores a estrógenos tipos alfa (RE α) involucrados en el crecimiento prostático, por lo que la disminución de los valores de estradiol podría estar generando un antagonismo de la expresión del RE α y, por ende, una disminución de la proliferación celular.^{18,26} Esto concuerda con lo reportado previamente por *Härkönen* y *Mäkelä*, quienes demostraron que los estrógenos afectan tanto el crecimiento como la diferenciación prostática, lo que indica que el posible mecanismo de acción del EGb es antagónico sobre los receptores RE α ,²⁷ efecto que sería interesante analizar.

Estudios realizados por *Zhang* y otros muestran que el EGb inhibe la incorporación de timidina al ADN y, por ende, su biosíntesis. Este efecto podría

deberse a que el EGb provoca la inhibición de las quinasas involucradas en la fosforilación de los nucleótidos de timidina e impide de esta forma el crecimiento celular.²⁸ Asimismo, se ha demostrado que puede interferir en el ciclo celular al inhibir la progresión de la fase G0 a la fase S, y así reduce la síntesis de ADN y, por consiguiente, la mitosis en las líneas celulares de cáncer.²⁰ Por otro lado, se ha evidenciado que el EGb tiene actividad apoptótica al inhibir la expresión de genes de supervivencia como BCL-2 y BCL-xL,²⁹ de tal forma que estos mecanismos podrían explicar la disminución de la proliferación celular observada en los sujetos con HPB tratados con EGb.

Una posible causa por la cual no se observó el mismo efecto en la próstata ventral (PV) puede ser la menor sensibilidad a los andrógenos que presenta este lóbulo con respecto a la próstata dorsolateral (PDL), ya que las concentraciones del receptor de andrógeno (RA) disminuyen en la PV en función de la edad, además contiene un menor porcentaje de células positivas para el PCNA,³⁰ proteína cuya expresión puede ser regulada por los andrógenos,³¹ lo que ocasiona un efecto poco importante del EGb sobre la PV. Esto último se corroboró en el peso en fresco, donde se observó un aumento considerable a partir de la dosis de 40 mg kg⁻¹. En estas condiciones, las concentraciones de dihidrotestosterona (DHT; principal metabolito activo de la testosterona) podrían ser muy elevados, ya que McPherson y otros, evidenciaron que los niveles de DHT aumentaban conforme aumentaba el peso en fresco de la próstata.³² Por eso, sería interesante poder determinar las concentraciones de testosterona y DHT en el tejido de ambos lóbulos tratados con el EGb.

Al comparar los niveles de expresión del PCNA en el grupo tratado con finasterida, se muestra que a pesar de que hubo una disminución del peso en fresco en ambos lóbulos, no se observó una disminución importante de los niveles del PCNA, lo cual indica que la finasterida no disminuye la proliferación celular, pero sí produce una disminución del volumen prostático, razón por la cual es capaz de disminuir los síntomas del tracto urinario inferior.⁵

Los resultados de este estudio demostraron que el extracto de *G. biloba* tiene actividad antiproliferativa en la próstata evidenciada por la disminución tanto del peso en fresco de la glándula como de la expresión del PCNA en la PDL (zona homóloga a la zona de transición de la próstata en humanos y donde se produce la hiperplasia prostática benigna) de ratas macho de la línea Wistar con la administración de propionato de testosterona en las dosis efectivas previamente reportadas. La disminución de las concentraciones de estadiol en el suero de las ratas de los grupos tratados con EGb demuestra que los efectos en el peso en fresco y en la estructura histológica podrían estar relacionados con una actividad antiproliferativa causada por el efecto fitoestrogénico antagónico sobre los receptores RE α .¹⁸ Por tanto, se pudo determinar la eficacia del EGb y demostrar su actividad antiproliferativa y estrogénica en un modelo de hiperplasia prostática benigna.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue apoyado por el Programa de Mejoramiento del Profesorado (PROMEP)-Universidad Veracruzana-PTC (103.5/13/7135) y por UV-CA-202 "Química Biomolecular".

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lee SW, Doo SW, Yang WJ, Song YS. Importance of relieving the most bothersome symptom for improving quality of life in male patients with lower urinary tract symptoms. *Urology*. 2012;80(3):684-7.
2. Reyes NE. Hiperplasia Prostática Benigna. *Rev Méd Costa Rica Centroamérica*. 2013;606:269-72.
3. Gonzales CSI, Salcedo JL, Martinez MMA. Últimos avances en el diagnóstico de la hiperplasia benigna de próstata. *Acta Bioquím Clín Latinoam*. 2005;39(2):171-85.
4. Blasco VM, Timon GA, Lazaro MV. Abordaje de la hiperplasia benigna de próstata. *Actuación Atención Primaria-Especializada. Medifam*. 2003;13(3):133-42.
5. Cote RJ, Skinner EC, Salem CE, Mertes SJ, Stanczik FC, Henderson BE, et al. The effect of Finasteride on the prostate gland in men with elevated serum prostate-specific antigen levels. *Br J Cancer*. 1998;78(3):413-8.
6. Shin S, Lee M, Ha H, Seo C, Shin H. Inhibitory effect of Yukmijihwang-tang, a traditional herbal formula against testosterone induced benign prostatic hyperplasia in rats. *BMC Complement Altern Med*. 2012;12:48-55.
7. Hirshburg JM, Kelsey PA, Therrien CA, Gavino AC, Reichenberg JS. Adverse Effects and Safety of 5-alpha Reductase Inhibitors (Finasteride, Dutasteride): A Systematic Review. *J Clin Aesthet Dermatol*. 2016;9(7):56-62.
8. Dias MC, Furtado KS, Rodrigues MA, Barbisan LF. Effects of *Ginkgo biloba* on chemically-induced mammary tumors in rats receiving tamoxifen. *BMC Complement Altern Med*. 2013;13:93.
9. Jiang W, Cong Q, Wang Y, Ye B, Xu C. Ginkgo May Sensitize Ovarian Cancer Cells to Cisplatin: Antiproliferative and Apoptosis-Inducing Effects of Ginkgolide B on Ovarian Cancer Cells. *Integr Cancer Ther*. 2012;13(3):10-7.
10. Kim MJ, Park YJ, Chung KH, Oh SM. The inhibitory effects of the standardized extracts of *Ginkgo biloba* on Aromatase activity in JEG-3 human choriocarcinoma cells. *Phytother Res*. 2013;27(12):1756-62.
11. Zhao XD, Dong N, Man HT, Fu ZL, Zhang MH, Kou S, et al. Antiproliferative effect of the *Ginkgo biloba* extract is associated with the enhancement of cytochrome P450 1B1 expression in estrogen receptor-negative breast cancer cells. *Biomed Rep*. 2013;1(5):797-801.
12. Park YJ, Kim MJ, Kim HR, Yi MS, Chung KH, Oh SM. Chemopreventive effects of *Ginkgo biloba* extract in estrogen-negative human breast cancer cells. *Arch Pharm Res*. 2013;36(1):102-8.
13. Biggs ML, Sorkin BC, Nahin RL, Kuller LH, Annette L, Fitzpatrick AL. *Ginkgo biloba* and risk of cancer: Secondary analysis of the *Ginkgo* evaluation of memory (GEM) study. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*. 2010;19(7):694-8.
14. NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. *Diario Oficial de la Federación* de 18-06-2001.
15. Ni X, Zhang A, Zhao Z, Shen Y, Wang S. Demethoxycurcumin inhibits cell proliferation, migration and invasion in prostate cancer cells. *Oncol Rep*. 2012;28(1):85-90.
16. Pascual-Mathey LI, Rojas-Duran F, Aranda-Abreu GE, Manzo J, Herrera Covarrubias D, Muñoz-Zavaleta DA, et al. Effect of hyperprolactinemia on PRL-receptor expression and activation of Stat and Mapk cell signaling in the prostate of long-term sexually-active rats. *Physiol Behav*. 2016;157:170-7.

17. Haisenleder DJ, Schoenfelder AH, Marcinko ES, Geddis LM, Marshall JC. Estimation of estradiol in mouse serum samples: evaluation of commercial estradiol immunoassays. *Endocrinology*. 2011;152(11):4443-7.
18. Park YJ, Choo Wh, Kim HR, Chung KH, Oh SM. Inhibitory aromatase effects of flavonoids from *Ginkgo biloba* extracts on estrogen biosynthesis. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015;16(15):6317-25.
19. Zhong W, Peng J, Wu D, Han Z, Bi X, Dai Q. Ki67 and PCNA expression in prostate cancer and benign prostatic hyperplasia. *Clin Invest Med*. 2008;31(1):8-15.
20. Zhou LX, Zhu Y. Influence of *Ginkgo biloba* extract on the proliferation, apoptosis of ACC-2 cell and Survivin gene expression in adenoid cystic carcinoma of lacrimal gland. *Asian Pac J Trop Med*. 2012;5(11):897-900.
21. Chao JC, Chou CC. Effects of *Ginkgo biloba* extract on cell proliferation and cytotoxicity in human hepatocellular carcinoma cells. *World J Gastroenterol*. 2004;10(1):37-41.
22. Birks J, Grimley EV, Van Dongen M. *Ginkgo biloba* for cognitive impairment and dementia. *Cochrane Database Syst Rev*. 2002;(4):CD003120.
23. Gold PE, Cahill L, Wenk GL. *Ginkgo biloba*: A Cognitive Enhancer? *Psychol Sci Public Interest*. 2002;3(1):2-11.
24. Rivadeneyra-Domínguez E, Vázquez-Luna A, Rodríguez-Landa JF, Díaz-Sobac R. A standardized extract of *Ginkgo biloba* prevents locomotion impairment induced by cassava juice in Wistar rats. *Front Pharmacol*. 2014;5:213.
25. Peng CC, Liu JH, Chang CH, Chung YK, Chen KC, Chou KY, et al. Action Mechanism of *Ginkgo biloba* Leaf Extract Intervened by Exercise Therapy in Treatment of Benign Prostate Hyperplasia. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2013;1-12.
26. Goetzl MA, Van Veldhuizen PJ, Thrasher JB. Effects of soy phytoestrogens on the prostate. *Prostate Cancer Prostatic Dis*. 2007;10(3):216-23.
27. Härkönen PL, Mäkelä SI. Role of estrogens in development of prostate cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2004;92(4):297-305.
28. Zhang Y, Chen AY, Li M, Chen C, Yao Q. *Ginkgo Biloba* Extract Kaempferol Inhibits Cell Proliferation and Induces Apoptosis in Pancreatic Cancer Cells. *J Surg Res*. 2008;148(1):17-23.
29. You OH, Kim SH, Kim B, Sohn EJ, Lee HJ, Shim BS et al. Ginkgetin induces apoptosis via activation of caspase and inhibition of survival genes in PC-3 prostate cancer cells. *Bioorg Med Chem Lett*. 2013;23(9):2692-5.
30. Barnejee P, Barnejee S, Brown T. Increased Androgen Receptor expression correlates with development of age-dependent, lobe-specific spontaneous Hyperplasia of the brown Norway rat prostate. *Endocrinology*. 2001;149(9):4066-75.
31. Perry JE, Tindall DJ. Androgens regulate the expression of proliferating cell nuclear antigen posttranscriptionally in the human prostate cancer cell line, LNCaP. *Cancer Res*. 1996;56(7):1539-44.
32. McPherson SJ, Ellem SJ, Simpson ER, Patchev V, Fritzemeier KH, Risbridger GP. Essential role for estrogen receptor beta in stromal-epithelial regulation of prostatic hyperplasia. *Endocrinology*. 2007;148(2):566-74.

Recibido: 3 de noviembre de 2016.
Aprobado: 4 de marzo de 2017.

Luz Irene Pascual Mathey. Facultad de Química Farmacéutica Biológica,
Universidad Veracruzana, Xalapa. Veracruz, México.
Correo electrónico: lupascual@uv.mx

ARTICULO ORIGINAL

FRECUENCIA DE VARIANTES ALÉLICAS CYP2C9*2 Y CYP2C9*3 Y SU ASOCIACIÓN CON REACCIONES ADVERSAS A FENITOÍNA EN PACIENTES DEL CENTRO DE ALTA ESPECIALIDAD "DR. RAFAEL LUCIO" DE XALAPA, VERACRUZ, MEXICO.

(Frequency of CYP2C9*2 and CYP2C9*3 allelic variants and its association with adverse reactions to phenytoin in patients of high specialty center "Dr. Rafael Lucio" from Xalapa, Veracruz, Mexico).

Juana Ramírez Aguilera¹, Alberto A. Maldonado López¹, José Licia Espinoza¹, Ezri Cruz Pérez¹, María E. López Reyes², Luz I. Pascual Mathey¹, Clara E. Yerena Aguilar¹

¹Facultad de Química Farmacéutica Biológica, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz; México. ²Centro de Alta Especialidad "Dr. Rafael Lucio", Xalapa, Veracruz; México.

RESUMEN

Antecedentes y propósito. Las enzimas CYP2C9 y CYP2C19 son importantes en el metabolismo de fenitoína (PHT), CYP2C9 es responsable del 90% del metabolismo de ésta. Se han descrito diversas variantes alélicas de CYP2C9, siendo las más frecuentes: CYP2C9*1 (variante silvestre), CYP2C9*2 y CYP2C9*3. Estas 2 últimas codifican para enzimas con menor actividad enzimática y los portadores de las mismas, cuando son tratados con dosis estándar de PHT, suelen presentar niveles plasmáticos más elevados y un incremento en la frecuencia de reacciones adversas a medicamentos (RAM). El propósito del presente trabajo fue determinar las variantes alélicas CYP2C9*2 y CYP2C9*3 en pacientes tratados con PHT y su asociación con RAM. **Pacientes y métodos.** La población de estudio estuvo constituida por pacientes tratados con PHT. A todos los pacientes se les aplicó la encuesta de RAM y a partir de su historia clínica se obtuvieron datos sobre su esquema terapéutico, diagnóstico, así como su lugar de procedencia. Se identificaron las variantes alélicas CYP2C9*2 y *3 en muestras de sangre mediante la técnica de PCR-RFLP. **Resultados.** La frecuencia alélica fue de 96,7% (CYP2C9*1), 3,3% (CYP2C9*2) y 0,0% (CYP2C9*3). En relación a los genotipos obtenidos, el 93,4% fueron homocigotos silvestres (CYP2C9*1/*1), clasificándose como metabolizadores extensivos, mientras que el 6,6% restante fueron heterocigotos (CYP2C9*1/*2) clasificados como metabolizadores intermedios. Con respecto a las RAM, estas se presentaron en todos los pacientes con genotipo heterocigoto CYP2C9*1/*2 y en el 46,4% de los homocigotos silvestres, sin embargo, no se estableció una asociación estadísticamente significativa entre la variante *2 con la presencia de RAM. **Conclusión.** La variante alélica encontrada fue CYP2C9*2 y no se encontró la variante *3. Aunque el valor relativo muestra diferencia en la frecuencia de pacientes que presentaron RAM que poseen variantes mutadas y las que no las poseen, no se encontró una diferencia estadísticamente significativa.

Palabras Claves: Variantes alélicas, CYP2C9, fenitoína, RAM.

Rev. Farmacol. Chile (2017) 10 (1) 15-22

Recibido 20-09-2017; Revisado 03-10-2017; Aceptado 20-10-2017

1) INTRODUCCIÓN

Las enzimas del citocromo P450 (CYP450) realizan la biotransformación de fármacos y otros xenobióticos; dentro de este grupo se encuentran el CYP2C9 y CYP2C19, que son importantes en el metabolismo de fenitoína (PHT), un fármaco de ventana terapéutica estrecha y cinética no lineal (Fricke-Galindo *et al.* 2015) que es un anticonvulsivante efectivo para el manejo de crisis tónico-clónicas o crisis parciales, útil en la terapia del estado epiléptico generalizado de corta duración.

También se usa ampliamente para la prevención de crisis epilépticas secundarias a cirugías y traumatismos craneales (Dean, 2016). La enzima CYP2C9 es responsable del 90% y la CYP2C19 del 10% de la biotransformación de PHT (Fricke-Galindo *et al.* 2015).

Entre las variantes alélicas del gen CYP2C9, las más frecuentes son la CYP2C9*1, considerada la variante silvestre; CYP2C9*2, que presenta una actividad enzimática del 12% respecto a la variante anterior y CYP2C9*3, que sólo presenta una actividad del 5% (Fricke-Galindo *et al.* 2015).

Correspondencia a: Dra. Luz I. Pascual Mathey, Dirección postal: Facultad de QFB, Universidad Veracruzana, Circuito Gonzalo Aguirre Beltrán s/n, Zona Universitaria, CP. 91090, Xalapa, Veracruz, México. Teléfono: 52 (228)8421759. Correo e: lupascual@uv.mx

Los portadores de las variantes polimórficas, bajo tratamiento con PHT, suelen presentar niveles plasmáticos elevados, cifras de aclaramiento más bajas y un incremento en la frecuencia y severidad de reacciones adversas a medicamentos (RAM) (Martínez *et al.* 2006; Aldaz *et al.* 2011). Aun cuando la Agencia Reguladora de Fármacos y Alimentos de Estados Unidos (FDA) no ha incluido los polimorfismos de *CYP2C9* en la lista de biomarcadores farmacogenéticos para PHT, se ha considerado importante la disminución de la dosis para los portadores de uno o 2 alelos con actividad reducida, así como vigilar la presencia de RAM y los niveles plasmáticos del fármaco. El *CYP2C19* también participa en el metabolismo de PHT, aunque en menor proporción. Los alelos de *CYP2C19* *2A, *2B, *2, *3, *4, *5A, *5B, *6, *7 y *8 presentan una actividad enzimática deficiente, lo que podría aumentar la probabilidad de efectos tóxicos debidos a PHT, aunque estos han sido menos estudiados. En el Centro de Alta Especialidad "Dr. Rafael Lucio" (CAE), hospital de la ciudad de Xalapa, Veracruz, México, pacientes tratados con PHT han manifestado variaciones en el resultado de su terapia con las dosis habitualmente utilizadas en los trastornos indicados para este fármaco. Aunque las causas de este fenómeno pueden ser múltiples, es posible que entre ellas se encuentren variaciones genotípicas como las descritas anteriormente para las enzimas encargadas del metabolismo de PHT. Por ello, el propósito del presente trabajo fue realizar un estudio exploratorio para determinar la presencia de las variantes polimórficas de *CYP2C9**2 y *CYP2C9**3, en pacientes tratados con el fármaco y analizar su posible asociación con las reacciones adversas. Lo anterior permitirá contar con datos acerca de la distribución genotípica de esta enzima metabolizante en la población atendida en el CAE, y contribuir a la optimización de las terapias medicamentosas.

2) PACIENTES Y METODOLOGÍA

Se realizó un estudio observacional, transversal y descriptivo en el CAE de la ciudad de Xalapa, Veracruz, México, cuyo protocolo fue aprobado por el Comité de Ética de este Centro con oficio No. 15/16 de fecha 20 de marzo del 2016 y desarrollado de acuerdo a la declaración de Helsinki (Asociación Médica Mundial, 2013) durante el periodo de mayo a julio del 2016. Se incluyó a los pacientes bajo tratamiento con PHT con seguimiento farmacoterapéutico, que contestaron la encuesta de RAM, y que proporcionaron una muestra sanguínea, además de que firmaron la carta de consentimiento informado, siendo mayores de 18 años de edad, excluyendo los sujetos que no tuvieron apego terapéutico. Así mismo, a partir de las historias clínicas de los pacientes se construyó una base de datos acerca del padecimiento de cada paciente, lugar de procedencia, el servicio del hospital en que se encontraba, así como los fármacos que le estaban siendo administrados. Para la identificación de los alelos se obtuvieron muestras de 3 ml de sangre, a partir de las cuales, se extrajo el ADN mediante

la técnica de perclorato de sodio (Johns & Paulus-Thomas, 1989). El ADN así obtenido se cuantificó por espectrofotometría UV (Jenway Genova Osa, UK), comprobándose su integridad por electroforesis en gel de agarosa al 1,5% adicionado con Bromuro de Etidio, en un transiluminador (Syngene Genius, Cambridge USA). El análisis de las variantes alélicas *CYP2C9**2 y *CYP2C9**3 se efectuó por PCR-RFLP (Techne TC-512), según la técnica descrita por Yoon *et al.* (Yoon *et al.* 2001). Las secuencias de los *primers* sentido y antisentido para *CYP2C9**2 fueron: 5'-GTATTTGG CCTGAAACCCATA-3' y 5'-GGCCTTGGTTTTCTCAACTC-3' (Promega), respectivamente, con un producto final de 455 pb. Empleando la enzima de restricción *Ava II* se generaron dos fragmentos, de 395 pb y 60 pb. Para *CYP2C9**3, el primer sentido fue 5'-TGCACGAGGTCAGAGGTAC-3' y el antisentido: 5'-ACAACTTACCTGGGAATGAGA-3' (Promega), lo cual generó un producto de 105 pb. Mediante la enzima de restricción *KpnI*, se produjeron dos fragmentos, uno de 85 pb y otro de 20 pb (Yoon *et al.* 2001).

El análisis estadístico incluyó el cálculo de las frecuencias simples para las características de lugar de procedencia, motivo de la administración de PHT, área del hospital en que estaba siendo atendido, así como los fármacos que integraban su tratamiento y las reacciones adversas referidas por los pacientes.

Una vez obtenidos los datos para cada muestra de la población estudiada, se procedió a calcular la frecuencia alélica y genotípica de *CYP2C9*, empleando un intervalo de confianza de 95% para el porcentaje de la población. También se clasificó a la población estudiada por tipo de metabolizador y se realizó el cálculo de la medida de asociación aplicando la prueba exacta de Fisher entre los genotipos encontrados y la presencia de RAM para PHT.

3) RESULTADOS

El número de pacientes que cumplieron los requisitos de inclusión durante el periodo de estudio ascendió a 30. El lugar de procedencia de los mismos fue de 18 distintas localidades, 17 del estado de Veracruz y 1 del estado de Puebla. El mayor porcentaje correspondió a Xalapa con un 33.3%, mientras que Atzalan, Naolinco y Perote aportaron cada uno el 6.7%, seguido de un 3.3% de cada una de las ciudades restantes que fueron Villaldama, Tenochtitlán, Tres Valles, Rafael Lucio, Poza Rica, San Rafael, Cosamaloapan, Altotonga, Coscomatepec, Tlalnehuayocan, Juchique de Ferrer, Misantla, San José Mihuatlán y San José del Estado de Puebla.

En lo que se refiere al servicio del hospital en donde eran atendidos los pacientes, se tuvo que 29% estaban en el departamento de Cirugía, consecutivamente en Unidad de Cuidados Intensivos el 24%, Medicina Interna el 23%, seguido de un 18% y 6% en los servicios de Ginecología y Área Privada, respectivamente.

Entre los estados patológicos que presentaban los pacientes, se puede apreciar que la mayoría de ellos tenían trauma craneoencefálico (23%), enfermedad vascular cerebral (10%), preeclampsia (10%), enfermedad cardíaca (7%), hematoma subdural (7%), epilepsia (7%), eclampsia (7%) y 3% de cada uno de los siguientes padecimientos que son tumor cerebral, secuelas de encefalopatía hipóximo-isquémica, neumonía atípica/B24, lesión con arma blanca en cabeza, hemorragia subaracnoidea/aneurisma, derrame cerebral/hemorragia, meningitis bacteriana/epilepsia, meningitis bacteriana/B24 y crisis convulsivas/SIRA grave/probable broncoaspiración. En cuanto a las manifestaciones de RAM identificadas se clasificaron de acuerdo a diferentes órganos y sistemas. Los porcentajes correspondientes se muestran en la tabla 1.

Tabla 1.

Órganos o sistemas	Porcentaje de RAM, por órgano o sistema (%)	RAM	Porcentaje de RAM (%)
Gastrointestinal	16%	Boca seca	3,6
		Constipación	0,5
		Dolor abdominal	2,9
		Flatulencia	1,7
		Vomito	4,7
		Gastritis	1,1
		Ascitis	0,5
Piel y anexos	9%	Alopecia	0,5
		Diaforesis	0,5
		Reacciones en el sitio de aplicación	1,7
		Prurito	0,5
Respiratorio	5%	Depresión respiratoria	0,5
		Hipoxia	0,5
Sistema Nervioso Central	32%	Cefalea	10,1
		Desorientación	4,1
		Crisis convulsivas	3,5
		Disfonía	1,7
		Dolor	4,7
		Insomnio	0,5
		Mareo	7,1
		Nistagmo	0,5
		Parestesia	1,1
Somnolencia	4,1		

		Vértigo	1,1
		Fiebre de 39 a 40 °C	4,1
		Sueño prolongado con dificultad para despertar	1,7
		Parálisis	1,1
Psiquiátrico	11%	Alucinaciones	2,9
		Depresión	1,1
		Dependencia física	1,1
		Pesadillas	1,7
Cardiovascular	5%	Hipertensión arterial	2,3
		Arritmia	1,1
Hepático	5%	Alteraciones de las pruebas de funcionamiento hepático	1,1
Renal	5%	Proteinuria	0,5
		Oliguria	0,5
Hematológico	7%	Eosinofilia	1,1
		Hematuria	1,7
		Hematoma	2,3
Músculo-Esquelético	5%	Perdida del tono muscular	3,4
		Mialgia	0,5

Tabla 1. Porcentaje de RAM en la población estudiada según el órgano o sistema involucrado.

En el caso de los fármacos concomitantes que fueron administrados a los pacientes, los que pertenecen al grupo de analgésicos, antipiréticos, antiinflamatorios no esteroideos, antigotosos y antirreumáticos modificadores de la enfermedad, corresponden al 21,3%, los fármacos gastrointestinales a un 20,7%, antiinfecciosos con 20,1% seguido de cardiovasculares con un 13%. Estos fármacos se enlistan en la tabla 2.

Tabla 2.

Grupo de fármacos	Porcentaje del grupo de fármacos (%)	Fármaco	Porcentaje del grupo (%)
Analgésicos, antipiréticos, antiinflamatorios no esteroideos, antigotosos y antirreumáticos modificadores de la enfermedad	21,3	Paracetamol	10,2
		Ketorolaco	9,1
		Tramadol	0,5
		Ácido acetilsalicílico	0,5
		Alopurinol	0,5
		Clonixilato de lisina	0,5

Fármacos gastrointestinales	20,7	Omeprazol	9,6
		Ranitidina	5,1
		Metoclopromida	2
		Senosidos AB	1,5
		Cinitaprida	0,5
		Odansetron	1
		Droperidol	0,5
		Pantoprazol	0,5
Antiinfecciosos	20,1	Ceftriaxona	7,6
		Amikacina	2
		Vancomicina	2
		Clindamicina	1,5
		Ciprofloxacino	1,5
		Metronidazol	1,5
		Cefepime	0,5
		Meropenem	1
		Cefalotina	1
		Clorexidina	0,5
		Cefotaxima	0,5
		Trimetoprima/ Sulfametoxazol	0,5
Oxítóticos y antioxitóticos	3	Nifedipino	2,5
		Oxitocina	0,5
Anticonvulsivos/ Antiepilépticos	1,5	Sulfato de Magnesio	0,5
		Valproato	0,5
		Levetiracetam	0,5
Fármacos que actúan en la sangre	3	Enoxaparina	1,5
		Clopidogrel	0,5
		Etamsilato	0,5
		Sulfato ferroso	0,5
Fármacos que actúan en las vías respiratorias	1,5	Ipratropio/Salbutamol	1,5
Anestésicos	3,5	Clonazepam	0,5
		Midazolam	1
		Fentanilo	1
		Lidocaína	0,5

Fármacos psicoterapéuticos	2	Diazepam	0,5
		Citicolina	0,5
		Buprenorfina	0,5
		Olanzapina	0,5
		Risperidona	0,5
Diuréticos	1,5	Espiro lactona	0,5
		Acetazolamida	1
Hormonas, otros medicamentos endocrinos y anticonceptivos	2,5	Norepinefrina	0,5
		Metformina	0,5
		Insulina	1
		Progesterona	0,5
Antialérgicos y medicamentos utilizados en la anafilaxia	1	Gluconato de calcio	0,5
		Dexametasona	0,5
Productos sanguíneos y sucedáneos del plasma	0,5	Poligelina	0,5
Vitaminas y minerales	0,5	Fosfato de potasio	0,5
Fármacos cardiovasculares	13	Enalapril	3
		Furosemida	2
		Hidralazina	1,5
		Atorvastatina	0,5
		Metoprolol	1
		Digoxina	0,5
		Levosimedan	0,5
		Amiodarona	0,5
		Amlodipino	0,5
		Losartan	1
		Hidroclorotiazida	0,5
		Prazosina	0,5
		Alfametildopa	0,5
Nimodipino	0,5		

Tabla 2. Fármacos concomitantes administrados a los pacientes clasificados según su indicación.

En cuanto a los resultados de frecuencia de las variantes alélicas y de genotipos para CYP2C9 se muestran en la tabla 3.

Tabla 3.

Frecuencia alélica			Frecuencia genotípica					
CYP2C9*1	CYP2C9*2	CYP2C9*3	CYP2C9	CYP2C9	CYP2C9	CYP2C9	CYP2C9	CYP2C9
96,7%	3,3%	0,0%	93,4%	6,6%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%

Tabla 3. Frecuencias de variantes alélicas y genotípicas del estudio actual.

Como se observa, al determinar la frecuencia genotípica del total de la población estudiada, 28 pacientes (93,4%) fueron homocigotos para el alelo silvestre y 2 pacientes (6,6%) fueron heterocigotos para CYP2C9*2. Cabe mencionar que, de acuerdo al método utilizado, a los pacientes que no poseen los alelos CYP2C9*2 y *3 se les considera homocigotos silvestres, sin embargo, es posible que sean portadores de otras variantes alélicas no determinadas.

Al hacer la clasificación de la población en tipos de metabolizadores se obtuvo que el 93,4% son considerados metabolizadores rápidos (MR), 6,6% corresponden a metabolizadores intermedios (Tabla 4).

Tabla 4.

GEN	GENOTIPO	Frecuencia (%)	Tipo de metabolizador
	Homocigoto silvestre	93,4	Rápido
	Heterocigoto	6,6	Intermedio
CYP2C9	Heterocigoto	0	Intermedio
	Homocigoto mutado	0	Lento
	Heterocigoto	0	Intermedio
	Homocigoto mutado	0	Lento

Tabla 4. Clasificación de la población estudiada de acuerdo al tipo de metabolizador.

Una vez establecido el genotipo de los pacientes participantes en el estudio, se obtuvo su relación con la RAM dentro de dicha población (Tabla 5).

Tabla 5.

Paciente	RAM de PHT	Fármacos administrados	Genotipo	Tipo de metabolizador
3		Paracetamol Omeprazol Ketorolaco Ceftriaxona Ranitidina Enalapril Nifedipino Sulfato de Magnesio Amikacina Metoclopramida Vancomicina		
4		Furosemida Senosidos AB Clindamicina Ciprofloxacino Metronidazol		
7		Hidralazina Atorvastatina Midazolam Metoprolol Fentanilo Amlodipino		
11	Confusión mental/ Desorientación	Losartan Tramadol	CYP2C9	Rápido
12	Somnolencia Nistagmo Gastritis Vomito Diarrea	Gluconato de calcio Dexametasona Etamsilato Vecuronio	*1/*1	
17	Alteraciones de las pruebas de función hepática	Hidroclorotiazida Metformina Alopurinol Prazosina Poligelina		
19	Constipación	Clonixilato de lisina Lidocaína Meropenem Cinitaprida Cefalotina Alfametilodopa Odansetron Progesterona Droperidol Cefotaxima Pantoprazol Risperidona Fosfato de potasio Oxitocina		
21	Depresión Arritmia Eosinofilia	Losartan Hidroclorotiazida Ciprofloxacino Ketorolaco Omeprazol Metformina Alopurinol Prazosina		
27		Lidocaína Vancomicina Paracetamol Omeprazol Meropenem Amikacina Ketorolaco Ceftriaxona Nifedipino Sulfato de magnesio Ranitidina Cinitaprida		
28				
29				
30				
31				
9	Eosinofilia	Lidocaína Vancomicina Paracetamol Omeprazol Meropenem Amikacina Ketorolaco Ceftriaxona Nifedipino Sulfato de magnesio Ranitidina Cinitaprida	CYP2C9 *1/*2	Intermedios
14	Dolor abdominal Confusión mental/ Desorientación Somnolencia Ictericia	Lidocaína Vancomicina Paracetamol Omeprazol Meropenem Amikacina Ketorolaco Ceftriaxona Nifedipino Sulfato de magnesio Ranitidina Cinitaprida	CYP2C9 *1/*2	Intermedios

Tabla 5. Relación del genotipo con la presencia de sospechas de RAM de PHT.

Como puede observarse los dos pacientes que portan el alelo mutado CYP2C9*2 presentaron RAM a PHT. De los pacientes clasificados como homocigotos silvestres, 13, que corresponden al 46,4 %, tuvieron manifestaciones de estas RAM. Estos datos muestran una frecuencia mucho menor de RAM en los pacientes que no poseen las variantes alélicas, sin embargo, al calcular el valor de p aplicando la prueba exacta de Fisher se obtuvo un valor de 0,4828 lo que indica que la asociación no se considera estadísticamente significativa.

4) DISCUSIÓN

El propósito de este trabajo fue determinar las variantes alélicas CYP2C9*2 y CYP2C9*3 en pacientes tratados con PHT y su asociación con RAM en pacientes tratados en el CAE. La población en estudio incluyó pacientes de diversos lugares de procedencia, así como de distintos servicios del hospital que tuvieron en común el tratamiento con PHT.

De acuerdo a los resultados obtenidos, 96,7% de la población presenta el alelo silvestre, 3,3% la variante mutada *2 y 0% la variante *3. Los sistemas en los que se presentó mayor frecuencia de RAM son el sistema nervioso central, seguido en orden decreciente por los sistemas gastrointestinal y psiquiátrico, esto se asemeja a varios reportes donde el sistema gastrointestinal y sistema nervioso están dentro de los tres sistemas más afectados por las RAM (Zavaleta & Rosete, 2007; Sriram *et al.* 2011; Tumwikirize *et al.* 2011).

Esto se puede relacionar con el uso de fármacos concomitantes pertenecientes a analgésicos, antipiréticos, antiinflamatorios no esteroideos, fármacos gastrointestinales, antiinfecciosos y cardiovasculares que tienen una fuerte probabilidad de provocar RAM que afectan a los sistemas antes mencionados. Existen estudios que reportan la asociación de grupos de fármacos y sistemas afectados donde los sistemas gastrointestinal, dermatológico y sistema nervioso central fueron los más afectados y los antibióticos y AINES fueron los grupos farmacológicos con mayor incidencia de RAM (Farcas *et al.* 2010; Sriram *et al.* 2011; Tumwikirize *et al.* 2011; Salas *et al.* 2012).

Zavaleta & Rosete (2007) reportaron que las reacciones adversas más frecuentemente fueron dermatológicas, gastrointestinales y neurológicas. Las sospechas de reacciones adversas fueron atribuidas a antibióticos y antiinflamatorios no esteroideos (AINE). Para el caso de los pacientes que tienen un genotipo homocigoto silvestre y que presentaron RAM a PHT, puede mencionarse que la actividad de las enzimas del CYP450 está regulada por numerosos factores, como la edad, el género, el estado nutricional, comorbilidades (hepáticas y renales), además de los polimorfismos en genes que codifican para estas enzimas metabolizadoras (Saldaña-Cruz, 2013), es decir, el genotipo es un factor importante que permite

identificar el tipo de metabolizador, pero que de acuerdo a los demás factores asociados, un individuo clasificado como metabolizador rápido puede manifestar el fenotipo de metabolizador lento. Aunado a esto, como se mencionó anteriormente, en este estudio se determinó la presencia de las dos variantes alélicas más comunes (CYP2C9*2 y *3) pero existen otras que también provocan un metabolismo disminuido y que pudieran estar presentes en alguno de los pacientes que conformaron la población en estudio o incluso variantes alélicas de otras enzimas que participan el metabolismo de este fármaco.

Otro aspecto importante es que, como se mostró en los resultados, a todos los pacientes se les administraron fármacos concomitantes pertenecientes a distintos grupos, los que pudieron contribuir a las manifestaciones clínicas presentadas. Así, los pacientes No. 11 y 12 en tratamiento con metronidazol presentaron vómito o diarrea, esto se puede atribuir a una interacción en donde este antiinfeccioso es un potente inhibidor del CYP2C9, ralentizando el metabolismo de PHT y aumentando el efecto de este fármaco (Lynch & Price, 2007), dando la consecuencia de las RAM descritas en la tabla 5. Dentro del tratamiento concomitante de estos convalecientes estaban paracetamol y omeprazol, fármacos que aumentan las concentraciones plasmáticas de PHT, causando más riesgo de RAM (Aldaz *et al.* 2011).

En relación al paciente No. 3 con tratamiento con PHT, ácido acetilsalicílico, paracetamol, losartan, omeprazol y alopurinol, existiría sobresaturación enzimática ya que estos son sustratos del citocromo en estudio (Gallegos, 2010) dando origen a concentraciones de fármacos no metabolizados en sangre, ocasionando las RAM. El tratamiento con omeprazol y alopurinol de este paciente, da origen directo al aumento en las concentraciones plasmáticas de PHT, agravando la presencia de RAM (Aldaz *et al.* 2011) Este último mecanismo se pudo haber presentado en los pacientes No. 4, 7, 21, 27 y 28. En las pacientes con eclampsia, frecuentemente la fracción libre de PHT está anormalmente elevada y se ha observado que, en pacientes infectados por el VIH, la concentración de PHT libre se encuentra aumentada, estas dos consecuencias se presentan a causa de hipoalbuminemia o como resultado de la interacción de la PHT con los múltiples tratamientos que reciben estos pacientes (Aldaz *et al.* 2011).

La mayoría de los pacientes del presente estudio tenían hipoalbuminemia, que es muy prevalente en pacientes hospitalizados en general, causando aumento de la fracción libre de PHT (García *et al.* 2006). Las situaciones de hipoalbuminemia, como la cirrosis hepática, el embarazo o el paciente crítico, obligan a corregir la concentración total de PHT, pues se corresponden con una mayor proporción de PHT libre, que es la farmacológicamente activa (Aldaz *et al.* 2011). Los pacientes con genotipo heterocigoto (CYP2C9*1/*2) No. 9 y 14, son individuos clasificados como metabolizadores intermedios, presentando un aclaramiento de PHT

moderadamente reducida (Franco y Perucca, 2015) siendo más propensos a tener niveles séricos por encima del rango de referencia (Thakkar *et al.* 2012), a causa del alelo *2 una variante con disminución de hasta 90% de la actividad enzimática (Isaza *et al.* 2010). El paciente con eosinofilia muy marcada, una RAM clásicamente conocida por PHT (García *et al.* 2006) podría deberse a lo antes mencionado, como también al tratamiento con omeprazol y alopurinol originando aumento en las concentraciones plasmáticas de PHT (Aldaz *et al.* 2011), este paciente solo presento esta RAM por que la administración de PHT fue durante un día. El paciente No. 14 presento principalmente reacciones adversas del tipo neurológico como lo reportado por Kesavan *et al.* (2010) informando una fuerte asociación entre el genotipo *1/*2 en indios y toxicidad neurológica. Este paciente presento más reacciones a razón de que el tratamiento se prolongó por 10 días. Los individuos que portan uno o dos alelos defectuosos de *CYP2C9*, son más susceptibles de desarrollar efectos adversos en el SNC al ser tratados con las dosis habituales de PHT. Si se conoce el genotipo *CYP2C9*, se ha hecho la sugerencia de que la dosis de mantenimiento inicial de PHT se reduzca al menos 25% en los metabolizadores intermedios, y por al menos 50% en los metabolizadores lentos (Franco y Perucca, 2015).

Parece estar claro que varios factores pueden contribuir a la falta de correlación entre los polimorfismos de *CYP2C9* y las RAM. Además, es posible que, como ya se ha mencionado, *CYP2C9* no es la única enzima que metaboliza a PHT estando implicadas otras, principalmente *CYP2C19*. Por otro lado, las terapias con medicamentos concomitantes tal vez podrían interferir con el metabolismo de PHT. En nuestro estudio, el 100% de los pacientes utiliza medicamentos concomitantes en algún momento durante el tratamiento, lo que podría posiblemente modificar el metabolismo de PHT. Por supuesto, este trabajo tuvo algunas limitaciones, como por ejemplo la problemática principal podría ser el número reducido de sujetos participantes. Tal vez un número mayor de muestras puede superar este problema.

El estudio realizado por Hennessy *et al.* (2009) reporto que existe relación directa de portadores del genotipo *CYP2C9**1/*2, siendo propensos a desarrollar reacciones adversas a PHT, este estudio fue realizado a un pequeño grupo de sujetos (14 sujetos de raza caucásica), aunque la asociación no alcanzó significación estadística (Franco y Perucca, 2015). Este estudio se asemeja al realizado, por la siguiente característica, el grupo de estudio es pequeño, pero se reportan reacciones adversas asociadas con el polimorfismo determinado, sin establecer asociación.

AGRADECIMIENTOS

Los autores declaran no tener conflictos de interés con el contenido de este artículo. Este trabajo es parte del proyecto "Evaluación farmacoepidemiológica de las terapias medicamentosas y de los perfiles farmacogenómicos en pacientes del Centro de Alta Especialidad del Estado de Veracruz, "Dr. Rafael Lucio", apoyado por PRODEP mediante el programa de "Fortalecimiento de Cuerpos Académicos 2014", otorgado al UV-CA-202 "Química Biomolecular". Agradecemos el apoyo logístico brindado por la Q.F.B. Patricia Elisa Molina Prior, a la realización del presente estudio.

REFERENCES:

1. Aldaz A., Ferriols R., Aumente D., Calvo M. V., Farre M. R., García B., Marqués R., Mas P., Porta B., Outeda M., and Soy D. (2011). Monitorización farmacocinética de antiepilépticos. *Farm Hosp.* 35(6):326-33.
2. Dean L. (2016). In: Pratt V, McCarriers Leod H, Dean L, Malheiro A., and Rubinstein W., editors. (2012-2016). Phenytoin Therapy and *HLAB**15:02 and *CYP2C9* Genotypes. Medical Genetics Summaries [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US). 253-266.
3. Farcas A., Sinpetrean A., Mogosan C., Palage M., Vostinaru O., and Bojita M. (2010). Adverse drug reactions detected by stimulated spontaneous reporting in an internal medicine department in Romania. *Eur J Intern Med.* 1:453-7.
4. Franco V., and Perucca E. (2015). *CYP2C9* polymorphisms and phenytoin metabolism: implications for adverse effects. [Expert Opin Drug Metab Toxicol.](#) 11(8):1269-79.
5. Fricke-Galindo I., Jung-Cook H., Llerena A., and López-López M. (2015). Pharmacogenetics of adverse reactions to antiepileptic drugs. *Neurologia.* 1-12.
6. Gallegos G.M.L. (2010). Polimorfismo del gen *CYP2C9**2 en la efectividad de las sulfonilureas en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. Tesis de licenciatura. Orizaba, Ver. México. Universidad Veracruzana. Facultad de Química Farmacéutica Biológica.
7. Hennessy S., Leonard C. E., and Freeman C. P. (2009). *CYP2C9*, *CYP2C19*, and *ABCB1* genotype and hospitalization for phenytoin toxicity. *J Clin Pharmacol.* 49:1483-1487.
8. Isaza C., Henao J., and Beltrán L. (2010). Resistencia y sensibilidad a Warfarina. *Investigaciones Andina.* 20(12):30-40.
9. Johns MB Jr., and Paulus-Thomas J. E. (1989). Purification of human genomic DNA from whole blood using sodium perchlorate in place of phenol. *Anal Biochem.* 180 (2): 276-8.
10. Kesavan R., Narayan S. K., and Adithan C. (2010). Influence of *CYP2C9* and *CYP2C19* genetic polymorphisms on phenytoin-induced neurological toxicity in Indian epileptic patients. *Eur J Clin Pharmacol.* 66(7):689-96.
11. Lynch T., and Price A. (2007). The effect of cytochrome P450 metabolism on drug response, interactions, and adverse effects. *The Pharmacogenomics Journal.* 7(6): 391-6.
12. Martínez C., Blanco G., García-Martín E., and Agúndez J. A. (2006). Clinical pharmacogenomics for *CYP2C8* and *CYP2C9*: general concepts and application to

13. Salas R. S. G., Pérez M. M. E., Meléndez L. S. G., and Castro P. L. I. (2012). Reacciones adversas a medicamentos relacionadas con ingresos y estancias hospitalarias: revisión sistemática de 2000-2011. *Rev. Mex. Cienc. Farm.* 43:19-35.
14. Saldaña-Cruz A. M., Sánchez-Corona J., Márquez de Santiago D. A., García-Zapién A. G., and Flores-Martínez S. E. (2013). Farmacogenética y metabolismo de fármacos antiepilépticos: implicación de variantes genéticas en citocromos P450. *Rev Neurol.* 56:471-479.
15. Sriram S., Ghasemi A., Ramasamy R., Devi M., Balasubramanian R., and Ravi T. K. (2011). Prevalence of adverse drug reactions at a private tertiary care hospital in South India. *J Res Med Sci.* 16:16-25.
16. Thakkar A. N., Bendkhale S. R., Taur S. R., Gogtay N. J., and Thatte U. M. (2012). Association of CYP2C9 polymorphisms with phenytoin toxicity in Indian patients. *Neurology India.* 60:577-580.
17. Tumwikirize W. A., Ogwal-Okeng J. W., Vernby A., Anokbonggo W. W., Gustafsson L. L., and Lundborg S. C. (2011). Adverse drug reactions in patients admitted on Internal Medicine wards in a district and Regional Hospital in Uganda. *Afr Health Sci.* 11:72-78.
18. [Yoon Y. R., Shon J. H., Kim M. K., Lim Y. C., Lee H. R., Park J. Y., Cha J. J., and Shin J. G.](#) (2001). Frequency of cytochrome P450 2C9 mutant alleles in a Korean population. *Br J Clin Pharmacol.* 51(3):277-80.
19. Zavaleta M., and Rosete A. (2007). Reacciones adversas a medicamentos (RAM) en el Hospital Médica Sur. Avances y dirección de nuestros logros. *Rev. Médica Sur, México [Revista on-line].* 14(4). Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/medsur/ms-2007/ms074b.pdf>

ABSTRACT

*Background and purpose: The enzymes CYP2C9 and CYP2C19 are important in the metabolism of phenytoin (PHT), CYP2C9 is responsible of 90% of this metabolism. Several allelic variants of CYP2C9 have been described, the most frequent were: CYP2C9*1 (wild variant), CYP2C9*2 and CYP2C9*3. These last 2 encode enzymes with lower enzymatic activity and the carriers of these, when patients are treated with standard dosage of PHT, they tend to have higher plasma levels and an increase in the frequency of adverse drug reactions (ADR). The purpose of the present study was to determine the allelic variants CYP2C9*2 and CYP2C9*3 in patients treated with PHT and its association with ADR. Patients and methods: The study population was made up of patients treated with PHT. All the patients were given the ADR survey and from their medical history, data were obtained on their therapeutic scheme, diagnosis, as well as their place of origin. Allelic variants CYP2C9*2 and CYP2C9*3 were identified in blood samples using the PCR-RFLP technique. Results: The allele frequency was 96,7% (CYP2C9*1), 3,3% (CYP2C9*2) and 0,0% (CYP2C9*3). In relation to the obtained genotypes, 93,4% were wild homozygotes (CYP2C9*1/*1), classified as extensive metabolizers, while the remaining 6,6% were heterozygotes (CYP2C9*1/*2) classifying them as metabolizers intermediates. With respect to ADR, these were present in all patients with heterozygous CYP2C9*1/*2 genotype and 46,4% of wild homozygotes, however, it did not establish a statistically significant association between variant *2 with the presence of ADR. Conclusion: The allelic variant found was CYP2C9*2 and CYP2C9*3 variant was not found. Although the relative value shows a difference in the frequency of patients who had ADR who have mutated variants and those who do not have it, it was not found a significant.*

Keywords: Allelic variants, CYP2C9, phenytoin, ADR.

Rev. Farmacol. Chile (2017) 10 (1) 15-22

Received 20-09-2017; Revised 03-10-2017; Accepted 20-10-2017



Revista Mexicana de Ciencias
Farmacéuticas

ISSN: 1870-0195

rmcf@afmac.org.mx

Asociación Farmacéutica Mexicana, A.C.
México

Cruz Pérez, Ezri; Castillo Castillo, Miriam; Molina Prior, Patricia Elisa; Pascual Mathey, Luz Irene; Molina Rodríguez, Gloria; Soto Cid, Abraham Heriberto; Locia Espinoza, José
Caracterización de sospechas de reacciones adversas a medicamentos en un hospital de
Xalapa, Veracruz

Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, vol. 48, núm. 4, octubre-diciembre, 2017,
pp. 71-77

Asociación Farmacéutica Mexicana, A.C.
.png, México

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57956617008>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Caracterización de sospechas de reacciones adversas a medicamentos en un hospital de Xalapa, Veracruz

Characterization of suspected adverse drug reactions in a hospital of Xalapa, Veracruz

Ezri Cruz Pérez,¹ Miriam Castillo Castillo,² Patricia Elisa Molina Prior,² Luz Irene Pascual Mathey,¹ Gloria Molina Rodríguez,² Abraham Heriberto Soto Cid,¹ José Locia Espinoza¹

¹Facultad de Química Farmacéutica Biológica, Universidad Veracruzana, Xalapa Veracruz.

²Centro de Alta Especialidad "Dr. Rafael Lucio", Xalapa Veracruz.

Resumen

Las Reacciones Adversas a Medicamentos (RAM) son una causa importante de muerte en pacientes hospitalizados. Por ello su análisis y evaluación son importantes en los sistemas sanitarios. En este trabajo, se caracterizaron las Sospechas de RAM (SRAM) del año 2013 en el Centro de Alta Especialidad (CAE) del Estado de Veracruz. Se analizaron 82 SRAM; la causalidad en 63 % de los casos fue probable, en 22 % posible y en 15 % probada. Se encontró predominio de mareo con un 28.6 %, prurito con 26.2 % y *rash* generalizado con un 23.38 %. Respecto a la severidad, el 41 % de las reacciones fueron leves, 32 % moderadas y 27 % severas; al desenlace, el 6 % fueron graves y el 94 % no graves. Este estudio representa el primer trabajo de difusión de las actividades de Farmacovigilancia del CAE.

Abstract

Adverse Drug Reactions (ADRs) are a major cause of death in hospitalized patients. That is why its analysis and evaluation are important in healthcare systems. In this work, the Suspects of ADRs (SADR) in 2013 were characterized in the Center of High Specialty (CAE) of the State of Veracruz. 82 SADRs were analyzed; the causality in 63 % of the cases was probable, in 22 % possible and 15 % was proved. It was found a predominance of dizziness with 28.6 %, pruritus with 26.2 % and generalized *rash* with 23.38 %. With respect to severity, 41 % of the reactions were mild, 32 % moderate and 27 % severe; at the end of the study, 6 % were grave and 94 % were non-grave. This study represents the first diffusion work of pharmacovigilance activities of the CAE.

Palabras clave: Reacciones Adversas a Medicamentos (RAM), Sospechas de Reacción Adversa a Medicamentos (SRAM), Farmacia Hospitalaria, Farmacovigilancia.

Key words: Adverse Drug Reactions (ADR), Suspected Adverse Drug Reaction (SADR), Hospital Pharmacy, Pharmacovigilance.

Correspondencia:

QFB e ISC Ezri Cruz Pérez
Facultad de Química Farmacéutica Biológica, Universidad Veracruzana
Circuito Gonzalo Aguirre Beltrán s. n.
Zona Universitaria, C.P. 91090
Xalapa Enríquez, Veracruz, México
Teléfono: (+52) 22 8194 0544
Correo electrónico: ezacruz@uv.mx

Fecha de recepción: 22 de enero de 2018

Fecha de recepción de modificaciones: 22 de junio de 2018

Fecha de aceptación: 3 de julio de 2018

Introducción

La Farmacovigilancia (FV) se define como “las actividades relacionadas con la detección, evaluación comprensión y presencia de los eventos adversos, sospechas de RAM (SRAM), RAM, los eventos supuestamente atribuibles a la vacunación o inmunización, o cualquier otro problema de seguridad relacionado con el uso de los medicamentos o vacunas”.¹ Estos eventos constituyen un problema de salud pública, ya que son causa de morbilidad, mortalidad y aumento de costos de atención en salud.²

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha impulsado el desarrollo del programa internacional de FV en sus 194 estados miembros, dentro de los cuales, México es socio estratégico y la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS)³ regula la FV en el país mediante la NOM-220-SSA1-2016 “Instalación y operación de la farmacovigilancia”.¹

Los estudios de FV a nivel hospitalario, están enfocados al registro, interpretación y reporte de RAM,^{4,7} siendo de suma importancia ya que representan hasta un 12 % de la tasa de ingresos hospitalarios, y son una causa subestimada de morbilidad y mortalidad.⁸ Por otro lado, las condiciones fisiopatológicas y la polifarmacia en pacientes hospitalizados los hacen vulnerables a la aparición de RAM, puesto que, en ellos, la farmacocinética y farmacodinamia de los medicamentos pueden estar modificadas.^{9,10} En concordancia a esta situación, se sabe que del 1 al 30 % de los pacientes ingresados experimenta al menos una RAM, de las que, del 0.05 al 0.44 % son letales,¹¹ además de que generan del 5 al 10 % del total de los gastos hospitalarios de los pacientes que las presentan.⁸ Por todo ello, resulta de importancia cuantificar y analizar las RAM en estos pacientes para contribuir a la provisión de una asistencia médica adecuada y por la relevancia que implica, conocer cada una de las reacciones adversas que se pueden presentar.¹²

El Centro de Alta Especialidad (CAE) de Xalapa, Veracruz “Dr. Rafael Lucio”, es un hospital de tercer nivel de atención, en el que desde 2009 se ha implementado un programa de FV en todas sus áreas. Los resultados de dicho programa no se han caracterizado ni difundido en publicaciones especializadas. Por ello, el objetivo del presente trabajo fue caracterizar las SRAM que se presentaron en 2013 en el CAE para generar información que contribuya a incrementar el conocimiento sobre RAM en población mexicana.

Material y métodos

El objetivo de este trabajo fue caracterizar las SRAM reportadas en el CAE “Dr. Rafael Lucio” Xalapa, Ver. México. Se realizó un estudio observacional, retrospectivo y transversal; La muestra fue no probabilística, por conveniencia, de todos los formatos de SRAM registradas en la base de datos de FV del CAE durante 2013¹³ (82 SRAM). El análisis estadístico empleado fue descriptivo, determinando las frecuencias respecto a las variables estudiadas.

La información de las variables a evaluar se registró en una base de datos elaborada en el programa Excel considerando:

1. Clasificación de distribución de las frecuencias absolutas y relativas de acuerdo a variables demográficas (edad y sexo).
2. Causalidad aplicando el Algoritmo de Naranjo.
3. Severidad, consecuencia y desenlace de acuerdo a los criterios de la “NOM-220-SSA1-2016”.¹
4. Frecuencia de las manifestaciones de SRAM en: órganos y sistemas afectados, grupo farmacoterapéutico de medicamentos involucrados (sistema de clasificación anatómica, terapéutica y química (ATC))¹⁴ y vía de administración utilizada.
5. Calidad de la información de los reportes de SRAM según la “NOM-220-SSA1-2016”.¹

Por lo tanto, las variables estudiadas fueron: Edad, Sexo, Causalidad, Severidad, Consecuencia, Desenlace, Órganos y sistemas afectados, Grupo farmacoterapéutico, vía de administración y Calidad de la información de los reportes.

Resultados y discusión

Se analizaron las 82 SRAM detectadas en pacientes del CAE en el periodo de enero a diciembre 2013 y los resultados de la caracterización fueron los siguientes:

Variables demográficas

Respecto al género las mujeres ocupan el primer lugar (Tabla 1) esto corresponde a 71 pacientes de los 82 evaluados. Estos resultados son coincidentes a los reportados previamente por Calderón y colaboradores, donde el 73.3 % fueron mujeres,^{15,16} lo que se ha atribuido en estudios farmacoepidemiológicos a factores hormonales e intrínsecos.¹⁷ También se sabe que tienen una expectativa de vida superior a los hombres esto conlleva a un mayor consumo de medicamentos, además de ello, las mujeres se preocupan más por su salud y acuden con

Tabla 1. Distribución de las frecuencias absolutas y relativas de SRAM en la población de estudio de acuerdo al género y grupos etarios.

Características de la población de Estudio							
Total de pacientes en el estudio							
82 pacientes							
Género							
Femenino				Masculino			
71 (74.4 %)				21 (25.6 %)			
Grupos Etarios							
Total	Infante 1 -2	Pre-Escolar 3 - 5	Escolar 6 - 12	Adolescencia 13 - 19	Adulto Joven 20 - 40	Adulto 41 - 65	Adulto Mayor > 65
100%	1 (1.3 %)	3 (3.7 %)	1 (1.3 %)	10 (12.2 %)	17 (32.7 %)	16 (31.7 %)	14 (17.1 %)

mayor frecuencia a los servicios asistenciales,¹⁸ esto facilita la detección de efectos adversos a medicamentos.

Las frecuencias más altas de SRAM se encontraron en los grupos Adulto joven y Adultos (Tabla 1) esto difiere con lo reportado por Danza y colaboradores, quienes señalan que los pacientes que presentaron mayor frecuencia de reacciones adversas son los mayores de 60 años,¹⁷ ya que mientras más medicamentos se administren, mayor será la posibilidad de presentarlas. Además, la presencia de múltiples padecimientos y la modificación de la actividad metabólica en estos pacientes, puede condicionar respuestas diferentes a los medicamentos. En este estudio, la discrepancia con respecto a los porcentajes determinados de la distribución de SRAM en los grupos etarios Adulto joven y Adulto, puede deberse a que la mayor cantidad de pacientes se ubicó en los grupos etarios mencionados.

Causalidad

El análisis de causalidad de las SRAM encontradas se llevó a cabo empleando el algoritmo de Naranjo. Al respecto, se encontró que la SRAM con causalidad probable fue la más frecuente (Gráfica 1). Lo anterior coincide con estudios similares tanto a nivel nacional,^{8,19-22} como internacional.^{18,24} Por otro lado, en trabajos como el presente es difícil establecer como cierta la relación causal de la SRAM con el medicamento presuntamente implicado pues se requiere de la reexposición a éste, lo cual no es posible en la mayoría de los casos. Así, a semejanza de los trabajos de Lores y Rosete, ambos de 2011, en este estudio la categoría menos frecuente de causalidad fue cierta. Los resultados de la evaluación estatal contrastan con este estudio; las diferencias entre el centro estatal y este

estudio fueron: posible con 21.65 % por arriba, probable con 7.92 % por abajo y cierta con 13.73 % por arriba; no se puede tener una comparación de estas diferencias ya que aunque se conoce que el Centro Estatal de Farmacovigilancia utiliza el algoritmo de Naranjo para determinar causalidad, los criterios para ejecutar el instrumento pueden hacer que los resultados varíen.

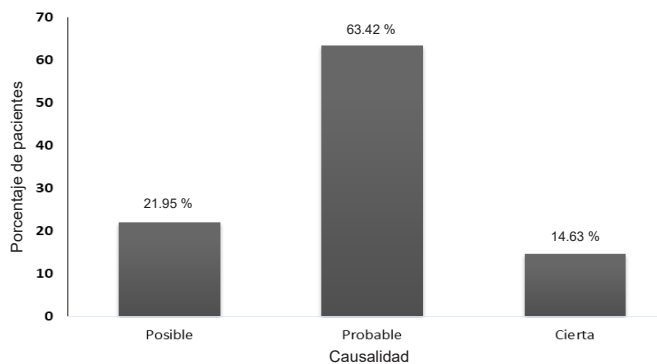


Gráfico 1. Causalidad de las SRAM.

Caracterización de SRAM de acuerdo a la NOM-220-SSA1-2016

Por otro lado, con respecto a la severidad de las SRAM (Gráfica 2), fueron principalmente leves y moderadas. Lo anterior implica que en más del 50 % de los casos, fue necesario administrar tratamiento farmacológico para resolver el problema ocasionado por la reacción. Otros estudios, han reportado como más frecuente a la categoría de moderada,^{18,19} sin embargo, coinciden con los resultados de esta investigación, en que la categoría severa es la menos

frecuente. Lo anterior puede explicarse por el hecho de que las SRAM que se reportaron con más frecuencia afectaron principalmente Piel y Anexos, siendo prurito y rash generalizado las más abundantes.

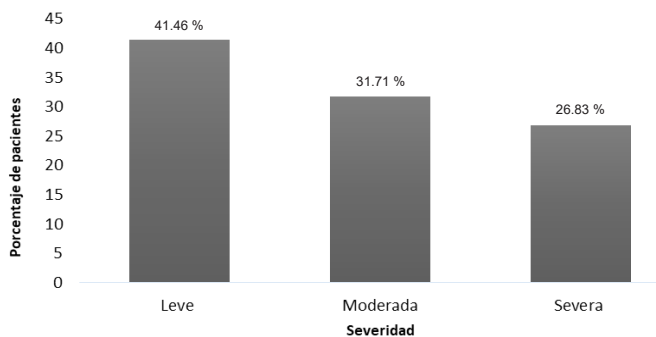


Grafico 2. Severidad de las SRAM.

Con respecto a la Consecuencia de la reacción, en este estudio se encontró que en gran medida los pacientes se recuperaron de la SRAM sin secuela. Sin embargo, en algunos casos no se tiene información acerca del desenlace de la reacción ya que fueron dados de alta antes de que se pudiera evaluar esta variable (Gráfica 3).

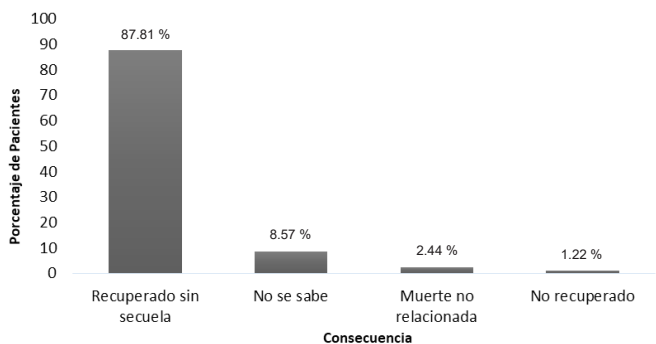


Grafico 3. Consecuencia de las SRAM.

La frecuencia mayor en la categoría “Recuperado sin secuela”, pudiera asociarse al hecho de que según lo reportado por diversos estudios, las reacciones adversas más frecuentes son prurito y rash generalizado, es coincidente con los estudios realizados por Rodríguez y colaboradores en Cuba.²⁰

Con respecto a la variable desenlace, se encontró pocos casos graves y en su mayoría no graves (Gráfica 4) caracterizándose estos resultados por una abundancia de manifestaciones con afectaciones que en su mayoría no ponían en riesgo su vida, esta tendencia es similar a la reportada en otros estudios

realizados en México (24 % graves, 76 % no graves y 0 % mortales)²¹ y en España (12 % graves, 87.9 % no graves y 0.1 % mortales).²⁵ El desenlace representa una afectación a la salud y a la vida del paciente por la aparición de la SRAM. Cuando la SRAM es “grave”, la vida del paciente se ve comprometida y cuando es “mortal”, el paciente pierde la vida.^{20,22} Por lo anterior, es importante dar seguimiento a las SRAM y monitorear su desenlace.

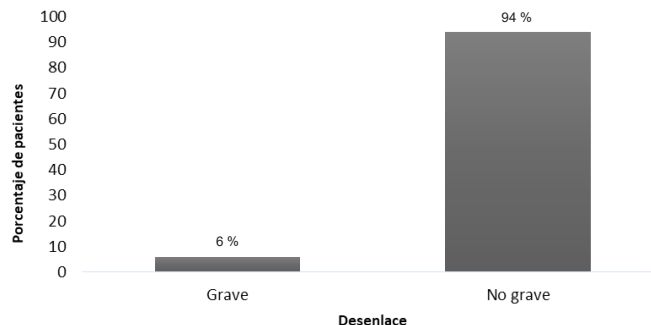


Grafico 4. Desenlace de las SRAM.

Manifestaciones de RAM

Respecto a los órganos y sistemas en los que se manifiestan las SRAM, la piel y anexos fueron los afectados con más frecuencia (Tabla 2), siendo las manifestaciones más abundantes Prurito y Rash Generalizado. Lo anterior es similar con el estudio realizado por Salas y colaboradores en un Hospital del IMSS en Tijuana, Baja California (2012)²³ y con lo reportado por Rodríguez y colaboradores en Cuba (2007).²⁶ El Sistema Nervioso Central se vio afectado en segundo lugar (Tabla 2), siendo la manifestación más frecuente mareo, la cual se identifica fácilmente porque imposibilita la movilidad y trae ansiedad a los pacientes. Ello también es reportado por Katja y colaboradores (2013) quienes muestran que los órganos más afectados correspondieron al grupo del Sistema Nervioso Central (33.3 %).²⁷ Debe resaltarse que previamente, la Unidad Coordinadora Nacional de Farmacovigilancia (UNCFV) en Cuba, ha reportado el mismo comportamiento de los datos en lo que respecta a Órganos y sistemas afectados.²⁸

Los medicamentos se agruparon de acuerdo a la clasificación ATC,¹⁴ observándose que los grupos Anti-infecciosos de uso sistémico, así como del Aparato Digestivo y Metabolismo fueron los más relacionados con las SRAM (Tabla 3). Estos resultados coinciden con estudios previos que demuestran que, en la mayoría de los pacientes ingresados al hospital como consecuencia de SRAM, el sistema gastrointestinal fue el más afectado (37 %), siendo los antibióticos de uso

sistémico (23 %), grupo farmacoterapéutico de mayor prescripción hospitalaria.⁸ También se ha reportado que los antiparasitarios fueron los más asociados a SRAM (85.9 %), siendo el sistema gastrointestinal el más afectado, seguido de los sistemas sistémico y vascular.²⁹ Todo lo anterior concuerda con los datos que indican que los grupos antibióticos, cardiovasculares y del sistema nervioso central son los que más se asocian con RAM.³⁰

Tabla 2. Órganos y sistemas afectados por las SRAM (n = 82).

Órganos y Sistemas	Frecuencia
Piel y anexos	39.2 %
Sistema Nervioso Central	31.25 %
Gastrointestinal	9.66 %
Psiquiátrico	8.52 %
Cardiovascular	6.25 %
Respiratorio	4 %
Hematológico	1.12 %

Tabla 3. Medicamentos Involucrados en las SRAM (n = 82).

ATC Nivel 1	Medicamentos	Frecuencia
J	Anti infecciosos de Uso Sistémico	33.33 %
A	Aparato Digestivo y Metabolismo	25.93 %
N	Sistema Nervioso	13.58 %
C	Aparato Cardiovascular	7.41 %
M	Sistema Músculo-Esquelético	6.09 %
S	Órganos de los Sentidos	3.66 %
B	Sangre y Órganos Hematopoyéticos	3.66 %
P	Antiparasitarios, Insecticidas y Repelentes	2.44 %
V	Varios*	2.44 %
R	Sistema Respiratorio	1.22 %

*Varios se refiere a: Alérgenos, agentes diagnósticos, nutrientes generales, suplementos, entre otros.

Aunque no es posible establecer un mecanismo concreto de las causas de las principales SRAM reportadas en este estudio en relación a los medicamentos implicados, se sabe que la butilhioscina (tracto gastrointestinal) está relacionada con

efectos a nivel de sistema nervioso central como vértigo y desorientación, mientras que a nivel de sistema dermatológico se ha reportado *rash*, urticaria, prurito y reacciones cutáneas. Por otro lado, la metoclopramida (tracto gastrointestinal) suele estar asociada con efectos a nivel de sistema nervioso central como cefalea, ansiedad, dificultad para dormir y mareos. Mientras que la ceftriaxona (anti-infeccioso) está relacionada con vómitos, náuseas, dolor abdominal y diarrea.²¹

La vía de administración de los medicamentos con la que se presentó mayor número de SRAM fue la intravenosa (Tabla 4). Lo anterior se debe a que en pacientes hospitalizados es la vía más utilizada. Además, se sabe que la relación de esta vía con SRAM es elevada,⁸ siendo un grave problema al no poderse retirar el medicamento una vez administrado, generando riesgos de iatrogenia y complicaciones mayores por extravasación, sepsis, embolias gaseosas o flebitis.³⁰

Tabla 4. Vía de administración de los medicamentos causantes de SRAM (n = 82).

Vía de administración	Frecuencia
Intravenosa	71.95 %
Oral	18.29 %
Intramuscular	3.66 %
Oftálmica	3.66 %
Rectal	1.22 %
Subcutánea	1.22 %

Calidad de la información

La calidad de la información se refiere a la exhaustividad e integridad de los datos contenidos en las notificaciones y reportes¹ en este estudio más del 50 % corresponde al grado dos y en menor medida al tres. La información del grado dos debe tener la siguiente información: paciente/consumidor identificable, al menos una SRAM o RAM, medicamento sospechoso, datos del notificador, fecha de inicio de la SRAM o RAM, fecha de inicio del tratamiento, fecha de término del tratamiento, denominación genérica, denominación distintiva, posología, vía de administración, motivo de prescripción, consecuencia del evento, datos importantes de la historia clínica para el caso, número de lote y nombre de laboratorio fabricante; para las notificaciones de grado tres, además de la información del grado dos se requiere que se incluya el resultado de la re-administración del medicamento.¹ La re-administración debe ser valorada por el farmacéutico en cada caso específico ya que en ocasiones puede ser de alto riesgo tener una re-administración positiva.

Conclusiones

Se caracterizaron las SRAM del 2013 detectadas en el CAE de acuerdo a la NOM- 220-SSA1-2016.

Los datos generados contribuirán a la estadística nacional respecto a farmacovigilancia.

Es necesario continuar realizando estudios de este tipo, para incrementar la seguridad de las farmacoterapias en este hospital.

Referencias

1. NOM-220-SSA1-2016 Instalación y operación de la farmacovigilancia. Diario Oficial de la Federación, (19-07- 2017).
2. Juan-Roldán QF. Farmacovigilancia: datos sobre el estado actual de esta disciplina en Chile. Rev Médica Clínica Las Condes. 2016;27(5):585-93.
3. Organización Mundial de la Salud, Organización Panamericana de la Salud. www.who.int/es/. Organización Mundial de la Salud. [Consultada el 26/Abr/2018]. https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=article&id=388&Itemid=40975&lang=es.
4. Ribeiro-Vaz I, Herdeiro MT, Polónia J, Figueiras A. Estratégias para aumentar a sensibilidade da farmacovigilância em Portugal. Rev. Saúde Pública [Internet]. 2011 Feb [cited 2018 June 21];45(1):129-135. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89102011000100015&lng=en. Epub Nov 12, 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-89102010005000050>.
5. Hernández-Hernández DM, Vargas-Rivera MJE, Nava-Ocampo AA, Palma-Aguirre JA, Sumano-López H. Drug therapy and adverse drug reactions to terbutaline in obstetric patients: a prospective cohort study in hospitalized women. BMC Pregnancy Childbirth [Internet]. diciembre de 2002 [citado 20 de junio de 2018];2(1). Disponible en: <http://bmcpregnancychildbirth.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2393-2-3>
6. Calderón-Ospina CA. La Farmacovigilancia en los últimos 10 años: actualización de conceptos y clasificaciones. Logros y retos para el futuro en Colombia. :14.
7. Lobo MGA de A, Pinheiro SMB, Castro JGD, Momenté VG, Pranchevicius M-CS. Adverse drug reaction monitoring: support for pharmacovigilance at a tertiary care hospital in Northern Brazil. BMC Pharmacol Toxicol [Internet]. diciembre de 2013 [citado 20 de junio de 2018];14(1). Disponible en: <http://bmcpharmacoltoxicol.biomedcentral.com/articles/10.1186/2050-6511-14-5>
8. Salas-Rojas, SG, Pérez-Morales, ME, Meléndez-López, SG, Castro-Pastrana, LI. Reacciones adversas a medicamentos relacionadas con ingresos y estancias hospitalarias: revisión sistemática de 2000-2011. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas [Internet]. 2012;43(3):19-35. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57928310003>.
9. Ponte-Marcelo L., Ragusa M, Armenteros C, Wachs A. Relevancia de la farmacovigilancia hospitalaria en la práctica médica actual. Medicina (B. Aires) [Internet]. 2013 Feb [citado 2018 Jun 21]; 73(1): 35-38. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0025-76802013000100007&lng=es.
10. Bernal A, Gómez D, López S, Acosta MR. Implicaciones neuropsicológicas, neurológicas y psiquiátricas en un caso de intoxicación por escopolamina. Psychologia. 10 de enero de 2013;7(1):105.
11. Esteban-Jiménez Ó, Navarro-Pemán C, González-Rubio, Lanuza-Giménez FJ, Montesa-Lou C. Análisis de la incidencia y de las características clínicas de las reacciones adversas a medicamentos de uso humano en el medio hospitalario. Rev. Esp. Salud Pública [Internet]. 2017 [citado 2018 Jun 21];91: e201712050. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1135-57272017000100424&lng=es. Epub 22-Dic-2017.
12. Gómez-Oliván LM, Téllez LAM, López OM. Importancia de establecer programas de farmacovigilancia en los hospitales mexicanos. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas [Internet]. 2005;36(2):41-48. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57936206>
13. Centro de Alta Especialidad del Estado de Veracruz “Dr. Rafael Lucio”. Informe estadístico Enero - Diciembre 2013. México: CAE; 2013.
14. Organización Mundial de la Salud. Medicamentos Esenciales y productos de Salud (Kit de herramientas ATC/DDD) [Consultado el 23 noviembre 2017]. Disponible en: <http://www.who.int/medicines/regulation/medicines-safety/toolkit/en/>
15. Calderón-Ospina C, Orozco-Díaz J. Reacciones Adversas a Medicamentos como Motivo de Consulta en un Servicio de Atención Prioritaria. Rev. salud pública [Internet]. 2008 May [cited 2018 June 21];10(2):315-321. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0124-00642008000200012&lng=en.
16. Avila-Pérez YR, Lluch-Bonet A, Rodríguez-Pargas A, Águila-Hernández M, Méndez-Martínez MC. Farmacovigilancia intensiva de agonistas adrenérgicos empleados en la atención al paciente grave. AMC [Internet]. 2012 Dic [citado 2018 Jun 21];16(6):1675-1692. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552012000600005&lng=es.

17. Danza Á, Cristiani F, Giachetto G. Reacciones adversas a los medicamentos en un servicio de medicina interna del Hospital Universitario. *Rev. Méd. Urug.* [Internet]. 2010 Sep [citado 2018 Jun 21];26(3):138-144. Disponible en: http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-03902010000300003&lng=es.
18. Lores DD, Lazo RY. Caracterización de las sospechas de reacciones adversas a medicamentos herbolarios notificadas a la Unidad Coordinadora Provincial de Farmacovigilancia Santiago de Cuba. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* [Internet]. 2011;42(1):37-44. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57918590004>
19. Bustos MZ. Reacciones adversas a medicamentos (RAM) en el Hospital Médica Sur. *Avances y dirección de nuestros logros.* 2007;14:7.
20. Rodríguez-Duque R, Jiménez-López G, Fernández-Manchón E, González-Delgado B. Caracterización de las reacciones adversas medicamentosas en ancianos: Cuba, 2003-2005. *Rev Cubana Farm* [Internet]. 2007 Dic [citado 2018 Jun 21];41(3) Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152007000300002&lng=es.
21. Rosete R. Farmacovigilancia en instituciones de salud. *Rev Invest Med Sur Mex*, Julio-Septiembre 2011;18(3):102-110.
22. Salas-Rojas SG, Pérez-Morales ME, Meléndez-López SG. Farmacovigilancia intensiva en el servicio de medicina interna del Hospital Regional No.1 del Instituto Mexicano del Seguro Social en Tijuana, B.C.. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* [Internet]. 2012;43(4):55-68. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57928311008>
23. Tribiño G, Maldonado C, Segura O, Díaz J. Costos directos y aspectos clínicos de las reacciones adversas a medicamentos en pacientes hospitalizados en el servicio de medicina interna de una institución de tercer nivel de Bogotá. *Biomédica* [Internet]. 2006;26(1):31-41. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=84326105>
24. Pucho-Cañas E., Luna-Castillo J.. Reacciones adversas a medicamentos en pacientes que acudieron a un hospital general: un meta-análisis de resultados. *An. Med. Interna (Madrid)* [Internet]. 2007 Dic [citado 2018 Jun 21];24(12):574-578. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-71992007001200003&lng=es
25. Arencibia-Morales A, Febles-Rodríguez JP, Castellano-Pérez D, Frómata-Moreno YJ, Corona-Prendes FD. Agrupación de técnicas inteligentes para predecir Reacción Adversa a Medicamentos. *RCIM* [Internet]. 2017 Jun [citado 2018 Jun 21];9(1):73-87. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1684-18592017000100008&lng=es
26. Hakkarainen KM, Andersson-Sundell K, Petzold M, Hägg S. Prevalence and Perceived Preventability of Self-Reported Adverse Drug Events – A Population-Based Survey of 7099 Adults. Morgan D, editor. *PLoS ONE*. 4 de septiembre de 2013;8(9):e73166. [Consultado en 27 noviembre 2017];8(9). Disponible en: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0073166>
27. Alonso-Carbonell L, García-Milián AJ, López-Puig P, Yera-Alós I, Blanco-Hernández N. Patrón de reacciones adversas a medicamentos referidas por la población mayor de 15 años. *Rev Cubana Med Gen Integr* [Internet]. 2009 Mar [citado 2018 Jun 21];25(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252009000100004&lng=es
28. Lara-Fernández H, Miranda-Gómez O, Casamayor-Laime Z, Nápoles-Pérez M, Calzadilla-Moreira V, Sotolongo-Hernández T. Sospechas de reacciones adversas a medicamentos en Servicios de Terapia. *Rev Cub Med Mil* [Internet]. 2008 Dic [citado 2018 Jun 21];37(4). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572008000400007&lng=es
29. Vonbach P, Dubied A, Krähenbühl S, Beer JH. Prevalence of drug–drug interactions at hospital entry and during hospital stay of patients in internal medicine. *Eur J Intern Med.* octubre de 2008;19(6):413-20.
30. Romero CV. Errores en la administración parenteral de antibióticos. [Tesis de Maestría], España: Escuela Universitaria de Enfermería, Universidad de la Rioja; 2014.