



# UNIVERSIDAD VERACRUZANA

## FACULTAD DE BIOANÁLISIS

### EXPERIENCIA RECEPCIONAL

M. JOSÉ DE JESÚS DANIEL LÓPEZ MUÑOZ

“ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS POSIBLES EFECTOS HEPATOTÓXICOS  
DE LA ADMINISTRACIÓN SUBAGUDA DE CARBAMAZEPINA Y UN DERIVADO  
DE ISOINDOLINA MEDIANTE PFH”

### MODALIDAD DE TITULACION: TESIS

### PRESENTA:

LIBNA SULEM GALLARDO BEATRIZ

### DIRECTORES DE TESIS:

M.C. MARIO EDUARDO ACOSTA HERNANDEZ

DR. FERNANDO RAFAEL RAMOS MORALES

### MIEMBROS DEL JURADO:

M. en c. ALMA DELIA VIVEROS RUÍZ

E.D. GRACIELA GPE. NAVA KURI

M en C. MARIA TERESA CRODA TODD

XALAPA, VER, DICIEMBRE DEL 2013

## *Agradecimientos*

*A MI MADRE: (ISABEL)*

*Porque desde el primer día que te exprese la idea de emprender este nuevo camino, depositaste tu confianza en mí sin pensarlo, sin saber cuál sería el resultado de todo esto. Por tu esfuerzo, tu dedicación y tus sacrificios hechos para poder sacarnos adelante. Espero que tus desvelos, tu cansancio, tus miedos, tus ganas de rendirte, tus preocupaciones, etc., mitiguen un poco con este pequeño logro que hoy te dedico, porque gracias a ti que he logrado todo hasta ahora, porque eres mi guía, mi ejemplo y una de mis inspiraciones.*

*Sé que hemos pasado momentos difíciles, pero de ninguna manera cambiaría el pasado, porque hemos aprendido y descubierto que eres la mejor y única persona que pudo haber llegado a forjar a 3 mujeres, que siempre serán tus hijas. Gracias a dios por todo lo que nos ha dado y gracias a ti mamá, te amo.*

*A TI: (JULIAN)*

*Porque encontrarte es una de las mejores cosas que me han pasado, porque estuviste conmigo desde el principio y ahora en el final de la meta que nos trazamos hace poco más de 4 años, gracias por tu apoyo y amor incondicional. Eres el mejor amigo y compañero de vida que puedo tener. Te amo.*

*A TODOS:*

*A todos lo que siempre confiaron en mí y me animaron en cada escalón de mi carrera, a mis hermanas, amigos, familiares y químicos maestros que me enseñaron mucho más que solo letras.*

*A mis directores y maestros, que sé que no es necesario nombrarlos porque ellos saben lo mucho que les admiro y agradezco; por guiarme, aguantarme, regañarme, enseñarme, corregirme y animarme, en este último pasó de mi carrera.*

*A todos ellos, no tengo palabras para agradecer por todo el apoyo, la confianza y la enseñanza que me dieron. Así que les dejo unas profundas gracias.*

# Índice

Índice	3
1. Resumen.	4
2. Introducción.	6
3. Antecedentes.	7
3.1 Neurotransmisores y epilepsia.	7
3.2 Fármacos anticonvulsivos y su mecanismo de acción.	10
3.3 Carbamazepina como anticonvulsivo.	12
3.4 Isoindolinas.	16
3.5 Hepatotoxicidad inducida por fármacos.	18
3.6 Pruebas de Funcionamiento Hepático (PFH) y la evaluación de la hepatotoxicidad.	22
4. Hipótesis.	27
5. Objetivo general.	27
6. Objetivo específico.	27
7. Planteamiento del problema.	28
8. Justificación.	29
9. Materiales y Métodos.	30
9.1 Diseño experimental.	30
9.2 Modelo estadístico.	30
9.3 Compuestos.	31
9.4 Sujetos experimentales.	31
9.5 Preparación y obtención de las muestras.	31
9.6 Proceso de las muestras.	31
10. Resultados	33
11. Discusión	44
12. Conclusiones	46
13. Propuesta.	46
14. Referencias	47

## 1. Resumen.

La epilepsia es uno de los problemas neurológicos más prevalentes en el mundo, esta enfermedad se define como la presencia de dos o más crisis epilépticas no provocadas por una causa identificable, las manifestaciones clínicas consisten en un fenómeno anormal y transitorio en relación a la zona cortical afectada, este fenómeno puede incluir alteración en la conciencia o alteraciones de tipo motora, sensitiva o cognitiva.

Como consecuencia existen una gama de fármacos útiles y específicos que inhiben los procesos químicos y eléctricos que producen la sintomatología característica de esta enfermedad para así poder ofrecerle al paciente una mejor calidad de vida. Metabólicamente el hígado es el principal órgano del cuerpo, cumple variadas funciones, entre la cuales están; síntesis de proteínas y de factores de coagulación, además es el centro detoxificador de metabolitos tóxicos y fármacos. Cuando se administra un fármaco en una primera fase, las enzimas de la familia del citocromo P-450 los catabolizan a través de una serie de episodios oxidativos, lo que genera metabolitos reactivos, capaces de inducir lipoperoxidación o de unirse en forma covalente a macromoléculas o al DNA, causando necrosis celular. Una vez en el hepatocito, y luego de una serie de etapas metabólicas de fase II, que incluyen conjugación con glucurónido, sulfato o glutatión, se transforman en productos hidrosolubles que se excretan por la orina o la bilis.

Por lo anterior, se sabe que la mayoría de los fármacos causan efectos no deseados, siendo la más común la toxicidad hepática. Carbamazepina es uno de los medicamentos generalmente utilizados para el tratamiento de las crisis convulsivas, sin embargo, aún no se sabe completamente cuál es su relación con el daño hepático, esta es metabolizada en hígado, a través del citocromo P450, la isoenzima 3A4, media la conversión a 10,11-epóxido de *Carbamazepina* que es el metabolito farmacológicamente activo. Algunos de los síntomas más usuales comprenden visión borrosa, vértigo, molestias gastrointestinales, aunque también

se observan agranulocitosis, comezón, síndrome de Steven–Johnson, anemia aplásica, pancreatitis y falla hepática.

Diversos estudios encaminados a la investigación de la hepatotoxicidad de fármacos muestran que *Carbamazepina* produce cambios en los niveles séricos de las transaminasas sugiriendo que un tratamiento prolongado podría provocar un daño importante a nivel hepático. Si bien en la terapéutica existen una gran variedad de medicamentos enfocados al tratamiento de las crisis convulsivas, se siguen desarrollando compuestos como posibles alternativas para el tratamiento de dichas crisis. El presente proyecto tiene como objetivo evaluar y comparar los efectos hepatotóxicos de la administración subaguda de un derivado de isoindolina y carbamazepina, mediante pruebas de funcionamiento hepático.

## 2. Introducción.

La epilepsia es un desorden del sistema nervioso central, teniendo hasta 1% de frecuencia en países desarrollados y alcanzando hasta 2% en países en desarrollo (Suarez, 2007). Es una enfermedad crónica que se describe por crisis recurrentes, las cuales son denominadas crisis convulsivas, éstas se caracterizan por ser una descarga paroxística y excesiva de un gran número de neuronas (Armijo, 2003).

La Liga Internacional contra la Epilepsia (ILAE) divide las manifestaciones clínicas en crisis parciales (inician en un área hemisférica específica) y en crisis generalizadas (las cuales llegan a afectar ambos hemisferios) (ILAE, 2010). Es importante tener en cuenta que para el tratamiento de la enfermedad se deben de tener en cuenta factores como, el tipo de crisis, la edad, alguna otra enfermedad o algún medicamento asociado; el tratamiento inicial más efectivo es por monoterapia con dosis lentamente ascendentes para poder llegar a un control adecuado de la crisis (Sainz, 2004). Los fármacos anticonvulsivos más usados y clásicos que han sido efectivos para el control de crisis parciales y generalizadas, son fenitoína, ácido valproico, benzodiazepinas y carbamazepina, siendo esta última muy útil y considerada de muy buena acción para crisis parciales complejas. El principal problema de estos fármacos anticonvulsivos es que, hay que vigilar reacciones secundarias hematológicas, hepáticas, cutáneas e incluso, estos efectos pueden afectar el SNC (Mayor, 1999; Sainz, 2004). El 98% de la carbamazepina absorbida se metaboliza en el hígado donde, la vía epóxido, que es la más importante, da en primer lugar al metabolito bioactivo 10,11-epóxido de carbamazepina, este metabolito a su vez es hidratado transformándose en el trascarbamazepinadiol que es excretado en la orina en forma libre y conjugada (Bruluard, 2013). Hasta el momento los únicos efectos no deseados de la carbamazepina reportados son, exantemas, leucopenia asintomática, y algunos casos en donde se muestra una importante elevación de los niveles de transaminasas los cuales no han sido valorados lo suficiente para suspender el tratamiento (Armijo, 2003).

### 3. Antecedentes.

#### 3.1 Neurotransmisores y epilepsia.

La función de las neuronas del encéfalo es la de enviar los impulsos eléctricos de una neurona a otra, esto se da principalmente por medio de neurotransmisores. Cuando el impulso eléctrico llega a cada neurona se produce una acción progresiva de sinapsis. Las redes neuronales son las responsables de que el encéfalo mantenga las reacciones en un estado de homeostasis, todo esto mediado por neurotransmisores (Gram, 1996).

Como se ha mencionado, una crisis convulsiva es una función excesiva, energética y sincronizada de impulsos en el sistema nervioso central (Gram, 1996), es decir una descarga eléctrica anormal, hipersincrónica de un grupo de neuronas, que una vez iniciada es autolimitada por mecanismos no plenamente esclarecidos. Dentro de los modelos experimentales de epileptogénesis se han asociado algunos mecanismos que se mencionan a continuación (Garcia, 2013):

- ✓ Alteraciones en el ambiente iónico celular, tales como pérdida en las concentraciones y balance principalmente de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{K}^+$  extra e intracelular, respectivamente así como en el  $\text{Na}^+$ , lo que resulta en una permeabilidad alterada de la membrana neuronal.
- ✓ También se sugiere la exagerada actividad excitatoria de neurotransmisores en relación con una mayor secreción de aspartato y glutamato dependientes de la entrada de  $\text{Ca}^{2+}$ , que actúan sobre receptores ionotrópicos y metabotrópicos, de los cuales el N-metil-D-aspartato es el que se ha relacionado más con las crisis convulsivas; por otro lado, existe una disminución de la actividad del ácido gammaamino butírico (GABA).
- ✓ Cambios estructurales en las neuronas caracterizadas por pérdida de las espinas dendríticas y la presencia de brotes axonales (Garcia, 2013).

El ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), es el principal y más abundante neurotransmisor inhibitorio del SNC, se estima que más de 40% de la sinapsis inhibitoria lo emplea

como neurotransmisor, a diferencia del ácido glutámico, que produce un potencial sináptico excitatorio, la liberación presináptica de este neurotransmisor, provoca un potencial presináptico inhibitorio. GABA es biosintetizado del principal neurotransmisor excitatorio, el ácido glutámico a través de la enzima descarboxilasa. El principal mecanismo de bioinactivación, es a través de un mecanismo de recaptura por un transportador específico dependiente de  $\text{Na}^+$ . El GABA recién sintetizado debe ser almacenado en vesículas presinápticas para ser liberado por exocitosis cuando llega el impulso nervioso a la terminal sináptica, proceso dependiente de  $\text{Ca}^{2+}$  (Rengifo, 2007; Mendoza, 2008).

Una vez liberado el GABA, este interacciona con receptores específicos que se localizan en las neuronas, de estos se conocen dos tipos de receptores  $\text{GABA}_A$  (ionotrópicos, canal dependiente de ligando) y los receptores  $\text{GABA}_B$  (metabotrópicos, acoplados a las proteínas G) de localización presináptica y postsináptica. (Mendoza Patiño, 2008).

Por su parte, el ácido glutámico (GLU), es el principal y más abundante neurotransmisor excitatorio del SNC, este es un ácido dicarboxílico no esencial que forma parte de la mayoría de las proteínas, es precursor de varias moléculas como el glutatión y el ácido fólico, también es el precursor del ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), que en contraste con el GLU es el principal y más abundante neurotransmisor inhibitorio en el SNC, este sistema contiene altas concentraciones de algunos aminoácidos, en particular el GLU, aspartato (ASP) y GABA, ampliamente distribuidos en el encéfalo, la capacidad de estos para alterar la función neuronal es muy potente y específica, estos despolarizan la membrana neuronal e inducen potenciales postsinápticos excitatorios, en tanto que los aminoácidos monocarboxílicos como el GABA y glicina se comportan como neurotransmisores inhibitorios, es decir hiperpolarizan la membrana neuronal e inducen potenciales postsinápticos inhibitorios (Mendoza, 2008).

Por otro lado, la membrana celular nerviosa se compone de capas lipídicas atravesadas por proteínas, estas, forman los canales iónicos que son otro tipo importante de potenciales eléctricos que sirven para mediar la función neural, por

medio del flujo de iones. En este caso la membrana celular contiene canales más permeables a  $K^+$  que a  $Na^+$ . Durante un potencial de acción estos canales de acción se activan de manera inversa, es decir son más permeables a  $Na^+$  que a  $K^+$  (Zuleta, 2007).

Algunas epilepsias idiopáticas están asociadas a mutaciones que afectan la función de ciertos canales iónicos dependientes de voltaje que son asociados a receptores de neurotransmisores, estas alteraciones son llamados canalopatías, las cuales, se han relacionado muy estrechamente con alteraciones clínicas, tal es el caso de miopatías nocturnas del lóbulo frontal, migraña hemipléjica familiar, epilepsia, etc. (Armijo, 2000). Existen varios tipos de canales, como los dependientes de voltaje, los relacionados con ligandos extracelulares y los que están ligados a segundos mensajeros (Herranz, 2002).

Los canales iónicos juegan un papel importante en la epilepsia tanto en el mecanismo de acción de esta, como en el de los medicamentos anticonvulsivos, debido a que estos cumplen un papel importante en la sincronización y la propagación de las descargas que producen las crisis (Armijo, 2000). Primordialmente, las epilepsias eran orientadas a neurotransmisores, pero actualmente se estudia la relación con la función de los canales iónicos, estudiando las mutaciones de los aminoácidos que constituyen las proteínas de estos, los cuales son los detonadores de las epilepsias (Nogale, 2005).

Debido a esto se tienen dos factores que pueden causar las crisis convulsivas; el primero tiene que ver con anomalías en el sistema GABAérgico o sus receptores asociados, por lo tanto las neuronas pierden la regulación de sus impulsos eléctricos. El segundo cuando existe la posibilidad de que el sistema GABAérgico sea funcional pero, los sistemas estimulatorios estén por arriba del equilibrio proporcionado por los neurotransmisores inhibitorios (por ejemplo concentraciones de glutamato, serotonina, neuropéptidos, etc., elevadas en el encéfalo, Gram, 1996).

### 3.2 Fármacos anticonvulsivos y su mecanismo de acción.

Hasta la década de los sesentas la epilepsia se trataba en base a la experiencia y la observación de la acción de los fármacos utilizados hasta que las crisis desaparecieran o se manifestaran signos de intoxicación (Bustamante, 2003). Hoy en día, existen diversos factores que deben tomarse en cuenta antes de disponer de un tratamiento para las crisis anticonvulsivas ya que existen diferentes elementos para la selección de un fármaco entre los que encontramos: los relacionados con el paciente, los cuales comprenden edad, sexo, peso corporal, toma simultánea con otros fármacos, estilo de vida y el cumplimiento del tratamiento; los relacionados con la enfermedad los cuales incluyen, tipo de epilepsia, tipo de crisis, frecuencia de crisis e incluso en ocasiones el tipo de alteraciones en el electroencefalograma (EEG); también existen factores relacionados con el fármaco anticonvulsivo, como las características farmacocinéticas y farmacodinámicas (Bustamante, 2003).

Los medicamentos anticonvulsivantes son fármacos empleados para prevenir o reducir la frecuencia o gravedad de los ataques de crisis convulsivas, en el tratamiento de la epilepsia, el cual está orientado a evitar estas crisis tratando de no interferir con la función cerebral normal del individuo (Lösher, 2002; Korolkovas 1983). Estos medicamentos pueden inhibir o disminuir la aparición de las crisis por tres mecanismos generales (Rodríguez, 2010; Torres, 2011);

- ✓ Incremento de la transmisión por ácido gammaaminobutírico (GABA): por facilitar la activación de los receptores GABA<sub>A</sub>, por inhibir la GABA-transaminasa, enzima encargada de la inactivación del GABA o por inhibir la recaptación del GABA y liberarlo desde la terminal presináptica (Zapata, 2005). El ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) es un neurotransmisor inhibitorio del sistema nervioso central que es reconocido por receptores GABA<sub>A</sub>, GABA<sub>B</sub> y GABA<sub>C</sub>, el A y C forman un canal iónico selectivo para el ion Cl<sup>-</sup>, mientras que el B son receptores acoplados a segundos mensajeros que activan canales de Ca<sup>2+</sup> y K<sup>+</sup>. La potenciación de la inhibición GABAérgica

puede conseguirse aumentando la biosíntesis, facilitando la liberación y la acción sobre el receptor e inhibiendo la recaptación y la degradación. Entre los medicamentos que utilizan este tipo de mecanismo están las benzodiazepinas y vigabatrina que potencia el efecto inhibitorio del ácido gammaaminobutírico (Medel, 2011; Armijo, 2003 ).

- ✓ La activación de receptores para GLU media la transmisión excitadora rápida, los fármacos anticonvulsivos disminuyen la transmisión excitatoria mediada por glutamato, es decir, bloquean los receptores de AMPA y kainato principalmente, el felbamato y topiramato son los más comunes para este mecanismo (Rodríguez, 2010; Torres, 2011).
  
- ✓ Inhibición de la función de los canales iónicos dependientes de voltaje, la carbamazepina y el valproato, son medicamentos frecuentemente empleados, actúan disminuyendo la excitabilidad de la membrana neuronal y la generación de potenciales de acción. Esta operación se realiza por el bloqueo de los canales de sodio dependientes de voltaje, responsable de la generación de potenciales de acción. El bloqueo ocurre preferentemente sobre las células que están descargando los iones sodio, por ejemplo una crisis convulsiva. Mientras mayor es la frecuencia de descarga de las neuronas, mayor debe ser el bloqueo (Rodríguez, 2010). El sitio donde actúan estos fármacos se encuentra en el lado extracelular del canal y sólo pueden exhibirse durante el estado inactivo, los fármacos más conocidos de este grupo son fenitoina, carbamazepina, oxocarbamazepina y lamotrigina.

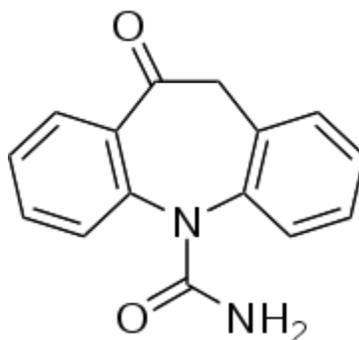
Existen varios tipos de fármacos anticonvulsivos, los clásicos, los cuales emergieron antes de 1970 y con los cuales pudo lograrse el control de las crisis epilépticas en el 70% de los pacientes. No obstante en el 30% restante, estos fármacos no alcanzaban su objetivo, por lo cual a partir de 1990 se desarrollaron nuevos fármacos, estos con la intención de aumentar la eficacia, reducir los

efectos adversos y mejorar las características farmacodinámicas y farmacocinéticas de los anticonvulsivos clásicos. Por tal razón las interacciones farmacocinéticas son mucho menos frecuentes e intensas que en los clásicos (Ochoa, 2005).

Uno de los objetivos del tratamiento anticonvulsivo es que debe evitar las crisis para que así el paciente tenga una buena calidad de vida. Como ya se mencionó anteriormente, era común el tratamiento combinado de dos fármacos, pero varios estudios demostraron que la monoterapia genera menos efectos secundarios con igual o incluso mejor control de las crisis. En la actualidad se disponen para el uso de monoterapias los siguientes fármacos los cuales incluyen carbamazepina, benzodiazepinas, fenobarbital, fenitoina, primidona y valproato; y los nuevos fármacos que son gabapentina, lamotrigina, oxocarbamazepina, topiramato, vigabatrina (Sánchez, 2005; Ochoa, 2005).

### **3.3 Carbamazepina como anticonvulsivo.**

*Carbamazepina (5H-dibenzazepina-5-carboxamida)* (Figura 1), es un derivado del iminodibencilo, el cual tiene un grupo carbamilo que le confiere su acción anticonvulsiva por medio de la inhibición de canales de  $\text{Na}^+$  dependientes de voltaje, disminuyendo el flujo de afuera hacia adentro de este ión a la neurona, reduciendo las descargas neuronales de alta frecuencia, también parece tener un efecto sobre los canales de  $\text{K}^+$ , aumentando el flujo de este y disminuyendo el recambio GABA (Vallejo, 2009). Es un fármaco de la familia de los antidepresivos tricíclicos, fue sintetizada durante el desarrollo del antidepresivo imipramina, se utilizó principalmente para el tratamiento de la neuralgia de trigémino, antes de convertirse en el principal fármaco para el tratamiento de las crisis focales (De la Espriella, 2010).



**Figura 1: Estructura molecular de carbamazepina**

Fue sintetizada a principios de 1950, diez años después se comenzó a utilizar para el tratamiento de la neuralgia, en 1974 en EEUU aprueban su uso como agente anticonvulsivo, incluyendo crisis generalizadas tónico-clónicas, simples parciales o parciales complejas, extendiéndose posteriormente a todos los tipos de epilepsia excepto las crisis de ausencia. Sus propiedades farmacocinéticas están influidas principalmente por dos razones; primero su poca o nula solubilidad con agua y segundo su capacidad de incrementar su conversión a un metabolito activo por acción de las enzimas hepáticas (Godoy, 2013).

El volumen de distribución de este fármaco oscila generalmente entre 0.8 y 1.4 l/Kg y su vida media varía entre 10 y 25 horas en adultos y 8.5 y 19 horas en niños (Alfonso R., 2003). Es absorbida rápidamente después de su administración por vía oral, las concentraciones plasmáticas máximas se observan de 2 a 6 horas después de la ingesta, se une a proteínas plasmáticas alrededor de un 80% y se metaboliza a 10,11-epóxido de carbamazepina (Figura 2), que es un metabolito farmacológicamente activo, su vía de transformación principal es a través de la isoenzima 3A4 del citocromo P450 (Marino,2012). Sólo el 3% del fármaco es eliminado por vía urinaria como el fármaco original sin metabolizar (Bustos, 2012). El metabolismo continúa hasta la Carbamazepina-10,11-dihidróxido y la conjugación con ácido glucorónico (Muriel, 2007).

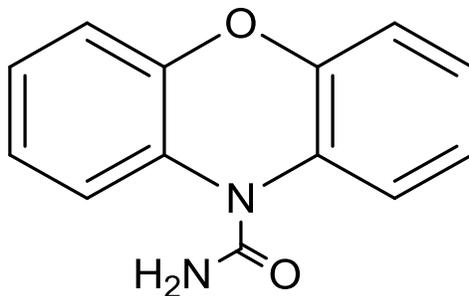


Figura 2. Estructura del metabolito 10,11-epóxido de carbamazepina.

Una parte importante en la evaluación inicial y seguimiento de pacientes con intoxicación por este medicamento, es la determinación cuantitativa de los niveles plasmáticos de la droga y su metabolito 10,11-epóxido. Concentraciones séricas mayores a 40 g/ml, predicen toxicidad mayor, aunque en niños puede considerarse niveles menores (por ejemplo 27 g/ml) debido a su más rápido metabolismo en relación a los adultos. Otro punto de interés en el monitoreo sérico, es la utilización de la relación cbz/epóxido, como un índice que refleja la velocidad de absorción de la droga desde el tracto gastrointestinal (Godoy, 2013).

La farmacocinética depende principalmente de su poca solubilidad y de la inducción enzimática que provoca, lo cual aumenta su propio metabolismo. Desde su administración oral, la absorción del medicamento es lenta y variable pero se absorbe casi completamente en el tracto gastrointestinal; se distribuye rápido por los tejidos principalmente en el líquido cefalorraquídeo y en el sistema nervioso central, también en órganos como corazón y pulmones y se metaboliza en el hígado produciendo inducción enzimática, es decir, origina la disminución de la concentración de otras drogas metabolizadas por el citocromo P450, ello hace que su vida media pueda disminuir o variar y que se requiera un aumento de la dosis entre las primeras 2 a 8 semanas de tratamiento (Godoy, 2013).

Un tratamiento con medicamentos anticonvulsivos implica la administración de dosis bajas, las cuales poco a poco van incrementando con el objetivo de mantener controladas las crisis, en adultos y niños >12 años el tratamiento se

inicia con 200 mg/día en dosis iguales y se aumenta semanalmente 200 mg/día hasta alcanzar una dosis de 600-1,200 mg/día (Fejerma, 2009; Weiss, 2010 ).

Los efectos más comunes son somnolencia, cefalea, diplopía, visión borrosa, exantema, trastornos gastrointestinales, ataxia, temblor, impotencia sexual, hiponatremia y neutropenia, vértigo, falta de coordinación, disartria, temblor, distonía, así como, erupciones cutáneas, vómito, diarrea, hepatitis, disfunción hepática y leucopenia benigna en adultos. Las enzimas hepáticas pueden aumentar en alrededor de 5-10% de los pacientes que reciben carbamazepina (Fejerman, 2009; Weiss, 2010). Incluso se puede considerar un fármaco que puede causar complicaciones hematológicas graves como aplasia medular (Calvo, 1998).

Como se mencionó anteriormente, la mayoría de los fármacos anticonvulsivos son metabolizados por vía hepática (a excepción de la gabapentina y vigabatrina que se metabolizan por excreción renal sin metabolismo hepático) esto dependerá del flujo sanguíneo hepático, la concentración de la albumina (proteína transportadora), integridad de los hepatocitos y del sistema hepatobiliar; si existiera alguna alteración de estos factores ocasionarían cambios en la biotransformación, y el acumulo de metabolitos. Las alteraciones de las funciones hepáticas se ven reflejadas en la elevación de transaminasas, hepatitis aguda, hepatitis granulomatosa, colestasia, ictericia hepatocelular, hepatitis, y en ocasiones, una falla hepática (Fernánde, 2009; Grau, 2013).

Algunas enzimas del CP450 por ejemplo la 3A4 son específicas de hígado e intestinos y contribuyen de manera importante en el metabolismo de más de la mitad de los fármacos utilizados clínicamente, se cree que esta enzima puede inducir hepatotoxicidad; en un estudio reciente se analizaron 13 fármacos entre ellos la carbamazepina, demostrando que esta aumentaba la actividad del CYP3A4 induciendo hepatotoxicidad (Hosomi, 2009).

### 3.4 Isoindolinas.

Las isoindolinas son compuestos orgánicos heterociclos, que constan de un anillo bencénico de seis miembros unido a un anillo de cinco miembros que contiene nitrógeno (N) en la posición dos (Figura 3).

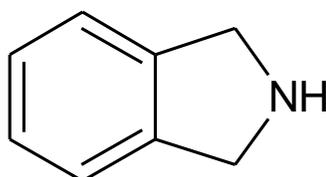


Figura 3. Estructura base de una isoindolina

Se sabe que estas moléculas han tenido buena intervención en la farmacología, pues a partir de ellas se han sintetizado compuestos que tienen actividad biológica desde antimicrobiana, antiinflamatoria (Prasad, 2010; Al-Qaisi, 2011), analgésicas, sedante hipnótico, hipoglucemiante, antitumoral, antiangiogénica, hipolipidémica, con efectos anticonvulsivos y como agentes bloqueadores de neuronas adrenérgicas (Abdel, 2004; Muñoz, 2009).

Por mencionar algunos ejemplos, el indoprofen es una isoindolina derivada del ácido fenilpropanoico, que a nivel experimental inhibe el dolor tanto agudo como subcrónico, también derivados de isoindolina inhiben de manera selectiva la prolildipeptidasa (DPPA) que es una de las blancos de acción de los fármacos para el tratamiento de la diabetes tipo II. Las imidazolininas son derivados de las isoindolinas, ejercen efectos neuroprotectores pues tienen afinidad por los receptores de imidazolina, las cuales están ampliamente distribuidas en el cerebro. La isoindolina-1,3-diona, tiene actividad farmacológica como sedante, actualmente un derivado de este compuesto se ha probado como anticonvulsivante (Acosta Hernández, 2009).

Los isoindoles pueden ser sintetizados por eliminaciones de N-isoindolina (1,3-dihidro-isoindol) así mismo, fácilmente producidos por la reacción de un nitrógeno y 1,2-bis-(bromometil)-benceno: por ejemplo la eliminación pirrólica de ácido acético del acetato de hidroxilamina cíclico (Joule, 2013).

Se sabe que ciertos aminoácidos se han venido utilizando para la síntesis de compuestos orgánicos como Isoindolinas, debido a su composición química se les denomina  $\alpha$  aminoácidos y se les considera neutros, entre los que han tenido mejor eficacia, son los proteicos como metionina, triptófano y fenilalanina (Palacios, 2009).

En un investigación previa, mediante un estudio teórico computacional, fueron evaluadas dos series de isoindolinas (1a-g) y (2a-g), donde se encontró que estas podrían ser bloqueadores de los canales de  $\text{Ca}^+$  (Mancilla, 2010).

De estas series de isoindolinas se realizó la síntesis y caracterización de tres derivados, de los cuales, mediante el modelo químico de inducción de convulsiones por pentilentetrazol (PTZ), se evaluó su eficacia anticonvulsivante, pudiendo observar una eficacia en la Isoindolina derivada del L-triptófano, pues fue la molécula que mostró mayor afinidad con el canal de calcio (Acosta Hernández, 2009).

De lo anterior, de la síntesis de la isoindolina derivada de triptofano (S)-2-(1,3-dihidroisoindol-2il)-3-(1H-indol-3-il)-propanoato de metilo, una vez que ya ha sido probado como anticonvulsivo y teniendo resultados favorables se hace el correspondiente estudio del efecto hepatotóxico que pueda llegar a provocar, comparado con un anticonvulsivo común, ampliamente utilizado.

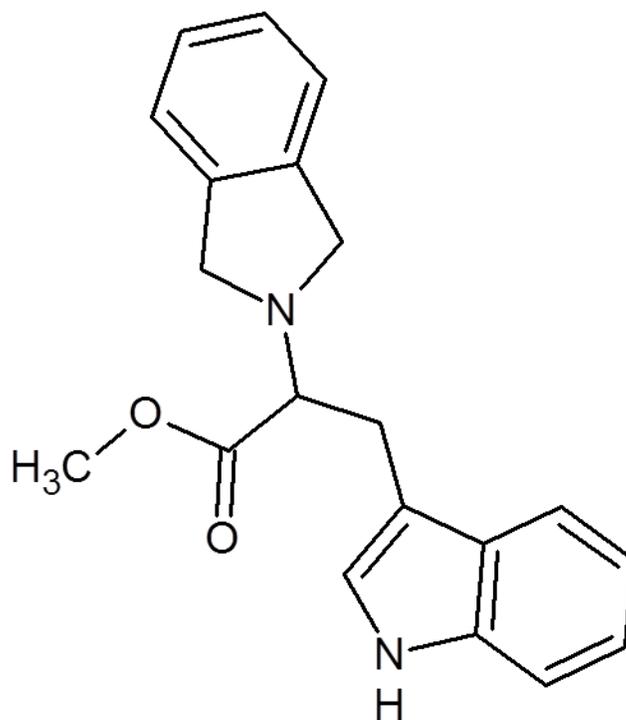


Figura 4. Estructura del compuesto (S)-2-(1,3-dihidroisoindol-2il)-3-(1H-indol-3-il)-propanoato de metilo

### 3.5 Hepatotoxicidad inducida por fármacos.

De todo lo anterior se puede exponer que al momento de administrar el tratamiento farmacológico, es ineludible el compromiso entre la eficacia de la terapia y los efectos no deseados, la hepatotoxicidad se refiere generalmente a los daños del hígado asociados con insuficiencia hepática causada por la exposición a un fármaco u otro agente no infeccioso (Risso, 2008).

Muchos de los mecanismos de hepatotoxicidad por medicamentos se deben a la formación de metabolitos reactivos, entre los fármacos más comunes asociados a la hepatotoxicidad se encuentra el paracetamol, medicamentos anticonvulsivos y antituberculosos. Los medicamentos con frecuencia están asociados a aumentos benignos de las enzimas hepáticas, sin embargo, el daño hepático grave esta reportado en algunos casos, la hepatotoxicidad por fármacos se puede presentar

con inflamación, colestasis y la gravedad puede ir desde enzimas aminotransferasas ligeramente elevadas a insuficiencia hepática fulminante. Pacientes con patrones elevados de colestasis presenta elevación de fosfatasa alcalina. De forma aguda la hepatotoxicidad se presenta con dolor abdominal y fiebre como una obstrucción biliar crónica con ictericia o prurito (Sedky, 2012).

Los fármacos anticonvulsivos clásicos son aromáticos (algunos ejemplos son la fenitoina, fenobarbital y carbamazepina), estos específicamente causan hepatotoxicidad que puede ser por diferencias genéticas o adquiridas en el metabolismo del fármaco o por secreción canalicular, defectos mitocondriales o muerte celular, estos fármacos anticonvulsivos aromáticos son metabolizados por las enzimas del citocromo P450 que generan la acumulación de metabolitos reactivos, este es un mecanismo de daño hepático. La toxicidad de estos metabolitos reactivos implica la disfunción mitocondrial y activación de TNF- $\alpha$ , los cuales son responsables de iniciar señales activadoras de muerte celular de los hepatocitos, por tanto, estas células mueren por apoptosis, necrosis y autofagia. Estudios recientes han comprobado que la lesión hepática por carbamazepina está asociada con acumulación de metabolitos óxidos y disfunción mitocondrial (Santos, 2008).

La mayoría de los fármacos se biotrasforman o detoxifican en hígado, por lo regular el metabolismo de las drogas resulta en productos inactivos, la detoxificación usando el sistema del citocromo P450 puede dar lugar a metabolitos activos y potencialmente tóxicos. Las sustancias que son metabolizadas por el hígado son lipofilicas o insolubles en el agua, pero el metabolismo enzimático, convierte las drogas en metabolitos solubles, los cuales son fácilmente excretados por el riñón (Santos, 2008).

El metabolismo de los fármacos se lleva a cabo por medio de dos fases:

- ✓ Fase I: se involucra al sistema del citocromo P450, e incluyen la oxidación, la hidrólisis o la reducción de las drogas, esta fase se lleva a cabo en el retículo endoplásmico.

- ✓ Fase II: aquí intervienen las reacciones de conjugación con el ácido glucorónico, la sulfatación, la acetilación, la conjugación con el glutatión o los grupos metilos, esta se lleva a cabo en el citoplasma de los hepatocitos (Chilo, 1999).

Hay 27 familias de genes responsables de las enzimas del citocromo P450, la subfamilia del CYP3A4 es la responsable del metabolismo de una variedad de agentes farmacológicos, entre ellos tenemos la carbamazepina, ciclosporina, dapsona, imipramina, dexametasona, ácido valpróico, verapamilo y vincristina.

Existen tres mecanismos principales por los cuales la toxicidad de la droga se puede desarrollar, como resultado del involucramiento del citocromo P450 (Chilo, 1999).

- ✓ El primer mecanismo produce la acumulación de cantidades excesivas de droga no metabolizada, la cual es causada por la disminución de la actividad del CYP, que generalmente se debe a la inhibición del CYP por fármacos. Para que la toxicidad se manifieste se necesita que la droga madre tenga potencial tóxico, la actividad del P450 debe de ser más baja de lo normal y que no sea metabolizada por otro grupo de enzimas.
- ✓ Los metabolitos electrofílicos del citocromo P450 incluyendo las quinolonas y los epóxidos, estos compuestos se combinan con grupos sulfhidrilos (SH) a nivel del citosol o proteínas de membrana, estos metabolitos también dañan el ADN, lo cual puede provocar carcinogénesis.
- ✓ Formación de radicales libres es más prominente cuando hay carencia de oxígeno (Chilo, 1999).

La célula hepática se puede deteriorar por ejemplo; cuando se daña la membrana celular entonces aumenta la probabilidad de necrosis celular, situación que va a originar un cuadro clínico de hepatitis aguda o insuficiencia hepática fulminante; si el compromiso ocurre en la membrana a nivel del canalículo y compromete a los

transportadores de membrana, probablemente el cuadro clínico será una colestasia; si se produce estimulación enzimática a nivel de los organelos intercelulares, los fármacos formaran un complejo con estos y originarán uniones irreversibles, que provocaran daño celular y alteraran su función; estos complejos pueden ser englobados por vesículas, que se pueden presentar en la membrana celular y servir de estímulo para una reacción de tipo inmunológica o autoinmune; o puede estimular diferentes elementos de inflamación, como el factor de necrosis tumoral, que produce daño celular directo; o bien, estos medicamentos o tóxicos pueden alterar algunos organelos, como la mitocondria, provocando daño por acumulación de grasa dentro del hepatocito que sería el mecanismo de síndrome de Reye asociado al uso de aspirina (Chavez, 2006).

Las reacciones secundarias en el hígado se dividen en dos tipos. Las primeras son consecuencia del aumento de los efectos farmacológicos, estos pueden ser el resultado de la formulación farmacéutica o de factores farmacocinéticas individuales, que pueden ser; efectos endócrinos (por ejemplo alteración en la hormona antidiurética, esta es causada por carbamazepina), efectos metabólicos (metabolismo de calcio, ácido fólico, etc.), efectos secundarios neurológicos relativo a la función cognitiva, conductual, etc. Y las segundas reacciones adversas que incluyen reacciones dermatológicas como erupciones cutáneas, síndrome de Stevens Johnson, hemorragias, dermatitis, lupus eritematoso sistémico, etc. (Sell, 2003).

Existen algunos síndromes clínicos asociados a las hepatotoxicidad secundaria a drogas, a continuación se mencionaran brevemente algunas de ellas.

Adaptación hepática: la cual, es la respuesta de adaptación a la exposición del fármaco por medio de vías antioxidantes, antiapoptóticas y antiinflamatorias, incluyendo el aumento de los hepatocitos y su adaptación al fármaco, se caracteriza por elevación asintomática de las transaminasas. Una forma de esta adaptación es la estimulación de enzimas hepáticas microsomales como el citocromo P450 (Fernández, 2008).

Hepatitis aguda: el hepatocito se necrosa, con infiltrado inflamatorio, ocurre por activación de los compuestos en el citocromo P-450, esta puede simular una hepatitis viral, con los mismos malestares, su diagnóstico se basa en niveles séricos de transaminasas (Fernández, 2008).

Esteatosis hepática no alcohólica: se caracteriza por la acumulación de grasa en macro y microvesículas en los hepatocitos, es provocada como consecuencia de disfunción de diversas vías metabólicas secundaria a medicamentos (Gutiérrez, 2010).

Hepatitis granulomatosa: esta es típica de las reacciones inmunitarias por hipersensibilidad por fármacos, caracterizada por la presencia de granulomas, que son una agregación central de células inflamatorias y epiteliales (Rodríguez, 2002).

Colestasis: caracterizada por elevación generalmente de la fosfatasa alcalina y bilirrubinas séricas esto por disminución o ausencia de flujo normal de la bilis (Moreira, 2006).

Entonces, sabemos que en el hígado se realizan muchos procesos inflamatorios por infecciones víricas, toxicidad por fármacos y metabolitos, procesos autoinmunes y distintos defectos genéticos, pero en los últimos años se ha sugerido que reacciones adversas por fármacos son las responsables de un aumento de casos de lesión hepática. El daño hepático inducido por drogas es la causa más común de muerte por fallo hepático agudo y representa por lo menos el 10% de fallo hepático a nivel mundial (Tejada, 2010).

### **3.6 Pruebas de Funcionamiento Hepático (PFH) y la evaluación de la hepatotoxicidad.**

Pruebas bioquímicas de función hepática, son utilizadas como tamizaje de afectación hepática (Salcedo, 1998), dentro del test de función hepática se incluyen varios parámetros bioquímicos como, aspartato aminotrasferasa (AST),

alanino aminotrasferasa (ALT), gamaglutamil transpeptidasa (GGT), fosfatasa alcalina (FA), bilirrubinas, albúmina y actividad de protrombina, es importante recalcar que de todas, solo las tres últimos miden la capacidad funcional del hígado, siendo los demás potenciales indicadores de daño hepático (Moreno, 2007).

- ✓ Aspartato-aminotransferasa (AST), es una enzima bilocular con dos isoenzimas, una de localización mitocondrial y otro citoplasmático. De vida media corta (2-4 días), no es específicamente hepática, ya que su actividad se encuentra repartida en diferentes tejidos corporales (hígado, corazón, músculo esquelético y eritrocitos).
- ✓ Alanino-aminotransferasa (ALT) de localización citoplasmática, situándose el 90% de su actividad en el hígado, por lo que se la puede considerar hepato específica. Junto con AST, constituyen el indicador más utilizado de enfermedad hepática, Su vida media es más elevada en plasma que la AST. Puede presentar alteraciones en relación a necrosis hepática de diferentes causas; shock, insuficiencia cardiaca, anoxia aguda, traumatismo, etc.

En traumatismos niveles de AST superiores a 450 U/L y de ALT mayores de 250 U/L son buenos predictores de daño celular.

Si existe necrosis hepática masiva la elevación de AST y ALT es todavía mayor y, en esta situación, una caída brusca de ambas enzimas suele ser de mal pronóstico. En hepatitis medicamentosas o toxicas, los niveles de AST y ALT son muy variables, según predomine una forma necrótica o colestática. En caso de que exista una masa ocupante de espacio, sea de origen tumoral o no, es frecuente el aumento de AST y ALT de dos a tres veces el valor normal (Dufour, 2008; Servillo., 2013).

- ✓ Bilirrubinas, existen dos fracciones, la no conjugada, cuya elevación puede ser debida a un aumento en la producción de pigmentos o a un trastorno en su captación por el hígado, y la conjugada, cuya elevación indica siempre un trastorno en la excreción de esta sustancia. Una hiperbilirrubinemia mixta se puede observar en hepatopatías agudas y crónicas (Ruza , 2003)

Por otro lado la bilirrubina puede encontrarse alterada en muchos tipos de enfermedad hepática o del tracto biliar o por razones inespecíficas (Dufour, 2008; Servillo., 2013).

- ✓ Fosfatasa Alcalina: esta enzima está presente en la mayoría de los tejidos corporales, principalmente en el epitelio intestinal y en los osteoblastos y en el hígado, donde se halla en las membranas de las sinusoides y canalículos. Se le atribuye la participación en procesos de absorción y transporte. Para confirmar el origen hepatobiliar de la fosfatasa alcalina se puede medir la concentración de otras enzimas procedentes del tracto biliar, en diagnóstico de colestasis la concentración de FA aumenta, debido a la obstrucción hepatobiliar, se induce la síntesis enzimática en los hepatocitos adyacentes al canalículo biliar y se forma una mayor cantidad de FA (Fuentes Arderiu, Castañeiras lacambra, & Queralto Compañó, 1998).
- ✓ Gamma glutamiltranspeptidasa; pertenece a un grupo de enzimas que cataliza la transferencia de aminoácidos de un péptido a otro, su concentración se eleva en la ictericia obstructiva, la colecistitis o las enfermedades infiltrativas y más tempranamente que la FA. A pesar de tener una mayor sensibilidad diagnóstica, su especificidad es menor, ya que su concentración en plasma aumenta también en otros tipos de lesión hepática (hepatitis infecciosa, hepatocarcinoma, esteatosis, etc.) aunque de forma moderada (Fuentes, 1998).

Pacientes tratados con medicamentos anticonvulsivos de curso asintomático, en evaluaciones de pruebas de funcionamiento hepático, aproximadamente el 60% de estos pacientes tiene elevaciones de GGT y 10-15% tiene elevaciones en FA. Valores altos de GGT y de FA deben de sugerir sospecha de ductopenia, que se caracteriza por pérdida de conductos biliares con riesgo de ictericia y mal funcionamiento hepático. Análisis recientes informan que aproximadamente el 30% de los pacientes tienen características de eosinofilia y el 20% se encuentra desarrollando efectos adversos, de los cuales el 15% muestra un aumento de AST (Bjornsson, 2008; Planjar, 2013).

El hepatocito es la célula diana habitual del efecto tóxico de los medicamentos sobre el hígado, cualquier célula parenquimatosa o no parenquimatosa del hígado puede resultar dañada de forma aislada o combinada, pudiendo simular cualquier tipo de enfermedad hepática conocida.

Lesiones hepáticas agudas: se definen como las alteraciones con evolución menor de 3 meses. A pesar de que la histología hepática es la herramienta más apropiada para la definición del patrón de lesión hepática, se ha propuesto una serie de definiciones con el fin de unificar el lenguaje de las reacciones adversas hepáticas, es decir la clasificación del tipo de daño hepático sobre la base de criterios de laboratorio (Tejada, 2010):

- ✓ La lesión hepatocelular (citolítica, citotóxica) se caracteriza por un incremento aislado de ALT mayor del doble del límite superior de la normalidad o una relación entre ALT/FA expresada en múltiplos del límite superior de la normalidad mayor de 5.
- ✓ La lesión colestásica se manifiesta por un incremento aislado de Fosfatasa Alcalina mayor del doble del límite superior de la normalidad o una relación entre ALT/FA menor de 2. Dicha lesión puede ser de dos tipos:
  - Colestasis blanda, pura o canalicular, este tipo de lesión es poco frecuente y se caracteriza por ictericia y prurito con transaminasas normales o mínimamente alteradas en ausencia de signos de hipersensibilidad.
  - Hepatitis aguda colestásica o variedad hepatocanalicular, los hallazgos histológicos incluyen inflamación portal y ductal, y necrosis hepatocitaria, junto a colestasis prominente de predominio centrolobulillar (Tejada, 2010)
- ✓ La lesión hepatocelular/colestásica mixta se asocia al aumento de ALT y FA mayor del doble del límite superior de la normalidad y una relación entre ALT/FA entre 2 y 5.
- ✓ Las lesiones hepáticas crónicas: estas se definen como crónicas cuando las anomalías bioquímicas persisten más allá de tres meses. Las lesiones

crónicas pueden ser necroinflamatorias (hepatitis crónica activa similar a la autoinmune), colestásica, fibrosis hepática y cirrosis, lesiones vasculares, granulomatosas o neoplásicas (Tejada, 2010).

Si bien las reacciones adversas hepáticas relacionadas con la administración de fármacos, es decir la hepatotoxicidad, son cuadros que se han hecho relativamente más frecuentes y presentan una amplia variabilidad clínica e histológica, y aunque en ocasiones la suspensión del fármaco desencadenante es suficiente para la resolución del cuadro, es importante la identificación precoz de estos cuadros, pues se pueden generar problemas irreversibles que afectan de manera importante al paciente.

#### **4. Hipótesis.**

La administración subaguda de un derivado de isoindolina no produce efectos hepatotóxicos comparada con carbamazepina en ratones de la cepa CD1.

#### **5. Objetivo general.**

Realizar un estudio comparativo mediante pruebas de funcionamiento hepático de los posibles efectos hepatotóxicos de la administración oral subaguda de carbamazepina y un derivado de isoindolinas.

#### **6. Objetivo específico.**

1.- Realizar la administración oral durante 30 días de Carbamazepina y el derivado de Isoindolina en ratones de la cepa CD1.

2.- Efectuar la tomas de muestras sanguíneas en los sujetos experimentales los días 1, 16 y 31 de la administración de compuestos.

3.-Realizar las correspondientes pruebas de funcionamiento hepático de los sueros de las muestras sanguíneas.

4.- Comparar los resultados de laboratorio para evaluar la posible hepatotoxicidad de ambos compuestos.

## **7. Planteamiento del problema.**

La epilepsia es un conjunto de trastornos neurológicos crónicos que afectan del 0.5 al 2% de la población mundial. Los fármacos utilizados en la terapéutica de esta enfermedad se llaman anticonvulsivantes, sin embargo, no ha sido posible desarrollar un compuesto ideal para el tratamiento de la misma, este debe ser diario, por lo menos de 3 a 5 años, sin embargo, en muchas ocasiones se mantiene de por vida. Los fármacos anticonvulsivos más usados y, que han sido efectivos para el control de crisis parciales y generalizadas, son fenitoína, ácido valpróico, benzodiazepinas y carbamazepina, siendo esta última muy útil y considerada de muy buena acción para crisis parciales complejas. El principal problema de estos fármacos anticonvulsivos es que, hay que vigilar reacciones secundarias como pueden ser hematológicas, hepáticas, cutáneas e incluso efectos sobre el SNC.

Si bien, los derivados de isoindolinas han mostrado poseer actividad biológica como anticonvulsivantes, es necesario, por lo mencionado anteriormente, realizar un proyecto encaminado a evaluar sus posibles efectos tóxicos a nivel hepático y compararlos con carbamazepina, debido a que este es un medicamento ampliamente utilizado en la terapéutica.

## **8. Justificación.**

El uso de tratamientos médicos implica riesgos los cuales deben de tratar de reducirse al mínimo, al utilizar un medicamento se requiere que el beneficio de su uso sea mayor al de sus efectos no deseados. En la práctica el uso de la mayoría de los medicamentos involucra riesgos para la salud de los pacientes (Armijo, 2001).

Estudios recientes han señalado que la mayoría de los fármacos anticonvulsivantes, producen efectos no deseados, desde sueño, náuseas, erupciones de la piel, disminución de los glóbulos blancos, insuficiencia hepática y pancreática. La gran mayoría de estos fármacos son metabolizados en el hígado; aunque no existe mucha información con respecto a la hepatotoxicidad y los efectos adversos de carbamazepina; existen informes sobre el aumento de transaminasas en pacientes con tratamiento prolongado.

Si bien en la terapéutica existen una gran variedad de medicamentos para el tratamiento de las crisis convulsivas, estos generan efectos no deseados, que muchas veces comprometen la calidad de vida del paciente, por lo que es necesario comparar los posibles efectos hepatotóxicos entre un derivado de isoindolina y carbamazepina, con la finalidad de proponer en un futuro a las Isoindolinas como una alternativa para el tratamiento de las crisis convulsivas.

## **9. Materiales y Métodos.**

### **9.1 Diseño experimental.**

Este estudio comparativo pretende evaluar el posible efecto hepatotóxico de la administración subaguda de un derivado de isoindolina y carbamazepina, respectivamente. Esta comparación se llevará a cabo mediante la realización de PFH. Las variables cuantitativas continuas para este estudio serán todos los analitos mencionados anteriormente, que se incluyen en las pruebas de diagnóstico para la evaluación del funcionamiento hepático

Para lo cual, se realizará la administración durante 30 días del derivado de Isoindolina y el fármaco control. Teniendo una N = 54 ratones de la cepa CD1, la obtención de las muestras sanguíneas se llevaron a cabo a las 24 h posterior a la primera dosis, a los 15 y 30 días posterior a la administración.

### **9.2 Modelo estadístico.**

Las variables a evaluar en los modelos experimentales fueron analizadas con ANOVA de una vía paramétrica cuando los datos pasaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas. Para aquellos datos que no cumplieron dichos supuestos, se utilizó una transformación a logaritmo base 10, con el mismo diseño, utilizando el programa Sigmastat 3.5 para Windows. Build 3.5.0.54.2006, graficando medias  $\pm$  error estándar. Para el caso específico de las bilirrubinas se utilizó un modelo lineal generalizado con una distribución *poisson* debido a la existencia de ceros en la base de datos, graficando medias  $\pm$  intervalos de confianza. Se consideraron diferencias estadísticamente significativas, cuando  $p < 0.05$  se aplicara la prueba post-hoc de Tukey.

Las gráficas se realizaron con el paquete estadístico SigmaPlot para Windows Versión 10.0 Build 10.0.0.54. 2006 y STATISTICA 7.0. StatSoft 84-2004.

### **9.3 Compuestos.**

Se prepararon soluciones para ambos compuestos de 10 mg/Kg para isoindolina y de 20 mg/Kg para CBZ, para la administración de los compuestos se utilizó como vehículo Propilen Glicol. Para el agente farmacológico control, se empleó, Trepina (Carbamazepina. Laboratorios Alpharma) el cual fue obtenido en una farmacia local. Los sujetos experimentales fueron sedados para la toma de muestra sanguínea, con Sedalpharma (Pentobarbital sódico marca Petspharma).

### **9.4 Sujetos experimentales.**

Para la evaluación de los posibles efectos hepatotóxicos, se utilizaran ratones de la cepa CD1 con un peso de 15 hasta 30 gramos. Estos se albergaron en un bioterio de estancia, en cajas de acrílico transparente con acceso libre a agua y alimento.

### **9.5 Preparación y obtención de las muestras.**

Se realizó la administración oral de los compuestos, a los ratones de cepa CD1 por 30 días en un horario estipulado. Al finalizar la administración, en el día 1,16 y 31, según sea el caso, se realizó la toma de muestra por punción cardiaca.

Las muestras sanguíneas se recolectaron en BD Microtainer ®, especiales para pruebas de funcionamiento hepático, inmediatamente a la recolección se centrifugan las muestras y se colocaron en copillas para su posterior estudio bioquímico, en caso de ser necesario su conservación, esta se hizo mediante congelación y sin exposición a la luz.

### **9.6 Proceso de las muestras.**

Estas se realizaron en el ANALIZADOR VITRO 250, la tecnología de este equipo se basa en base seca, esta tiene su inicio en los años 70's; actualmente se tienen tres tipos diferentes de láminas:

1.- Colorimétricas: es una determinación de punto final, ya que hace la medición una vez terminada la reacción.

2.- Potenciométricas: Miden el diferencial de potencial entre la muestra y el flujo de referencia, por medio de un electrón de ion selectivo.

3.- Enzimáticas: Se llevan a cabo varias lecturas durante el curso de la reacción.

Antes del procedimiento de las muestras se procede a hacer el control de calidad diario el cual se deben de correr una vez al día, por su parte se realizó la calibración de cada uno de los analitos antes del procedimiento de las muestras.

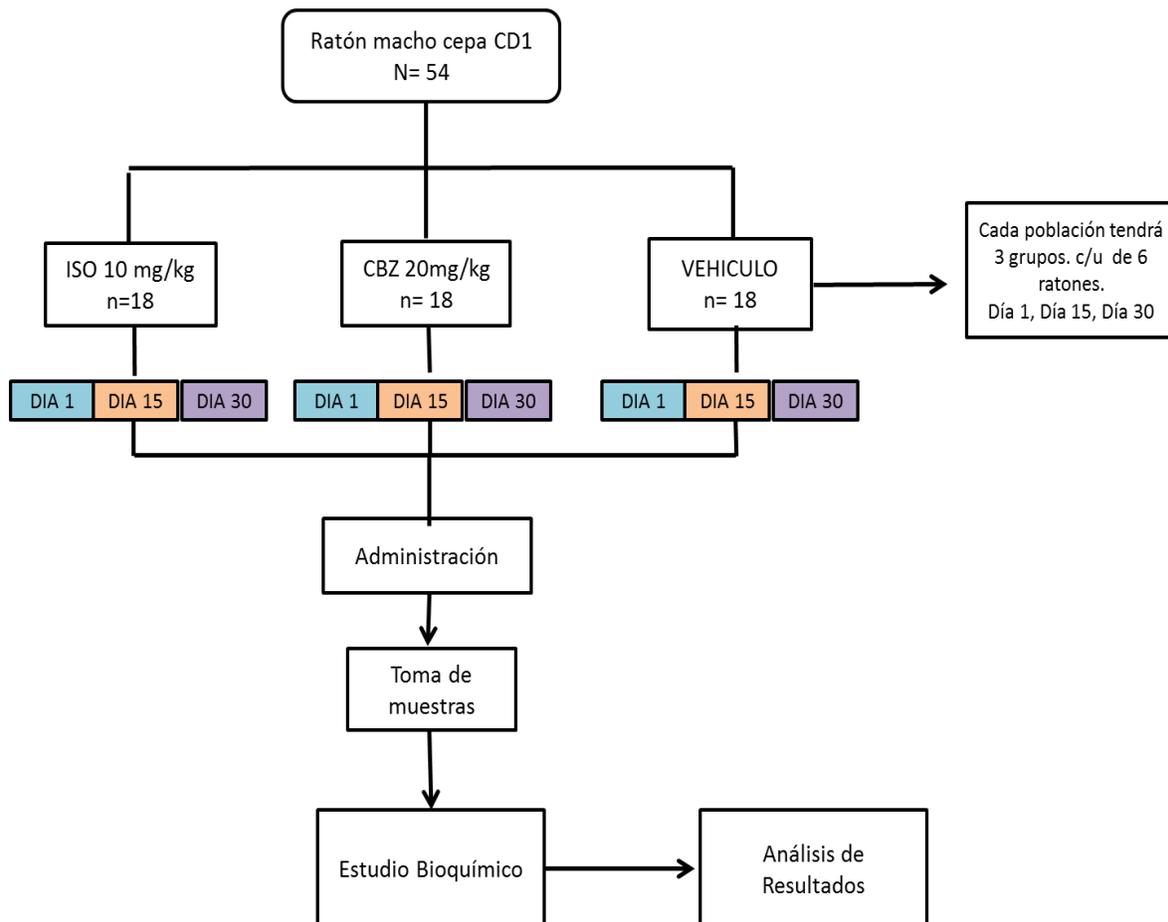


Figura. Plan de trabajo.

## 10. Resultados

De los análisis de las muestras biológicas se obtuvieron los siguientes resultados:

<b>Tabla 1. Valores de las muestras sanguíneas para la enzima AST:</b>					
<b>TRATAMIENTO</b>	<b>Día 1 (U/L)</b>	<b>TRATAMIENTO</b>	<b>Día 16 (U/L)</b>	<b>TRATAMIENTO</b>	<b>Día 31 (U/L)</b>
Vehículo	214	Vehículo	348	Vehículo	270
Vehículo	377	Vehículo	192	Vehículo	360
Vehículo	690	Vehículo	173	Vehículo	310
Vehículo	336	Vehículo	326	Vehículo	270
Vehículo	500	Cbz 20 mg	310	Vehículo	290
Vehículo	196	Cbz 20 mg	242	Vehículo	320
Cbz 20 mg	313	Cbz 20 mg	440	Cbz 20 mg	300
Cbz 20 mg	603	Cbz 20 mg	670	Cbz 20 mg	610
Cbz 20 mg	696	Cbz 20 mg	500	Cbz 20 mg	240
Cbz 20 mg	500	Cbz 20 mg	250	Cbz 20 mg	890
Iso 10 mg	266	Iso 10 mg	280	Cbz 20 mg	290
Iso 10 mg	173	Iso 10 mg	290	Cbz 20 mg	340
Iso 10 mg	159	Iso 10 mg	220	Iso 10 mg	570
Iso 10 mg	234	Iso 10 mg	340	Iso 10 mg	350
Iso 10 mg	202	Iso 10 mg	200	Iso 10 mg	270
Iso 10 mg	352	Iso 10 mg	300	Iso 10 mg	480
				Iso 10 mg	500
				Iso 10 mg	700

Tabla 1. En donde Cbz= Carbamazepina e Iso= Isoindolina.

<b>Tabla 2. Valores de las muestras sanguíneas para la enzima ALT:</b>					
<b>TRATAMIENTO</b>	<b>Día 1 (U/L)</b>	<b>TRATAMIENTO</b>	<b>Día 16 (U/L)</b>	<b>TRATAMIENTO</b>	<b>Día 31 (U/L)</b>
Vehículo	79	Vehículo	115	Vehículo	100

Vehículo	75	Vehículo	73	Vehículo	84
Vehículo	388	Vehículo	71	Vehículo	98
Vehículo	109	Vehículo	93	Vehículo	80
Vehículo	416	Cbz 20 mg	72	Vehículo	64
Vehículo	40	Cbz 20 mg	64	Vehículo	90
Cbz 20 mg	102	Cbz 20 mg	550	Cbz 20 mg	80
Cbz 20 mg	164	Cbz 20 mg	58	Cbz 20 mg	260
Cbz 20 mg	133	Cbz 20 mg	199	Cbz 20 mg	70
Cbz 20 mg	127	Cbz 20 mg	59	Cbz 20 mg	90
Iso 10 mg	28	Iso 10 mg	63	Cbz 20 mg	80
Iso 10 mg	40	Iso 10 mg	74	Cbz 20 mg	90
Iso 10 mg	45	Iso 10 mg	62	Iso 10 mg	90
Iso 10 mg	54	Iso 10 mg	74	Iso 10 mg	60
Iso 10 mg	29	Iso 10 mg	75	Iso 10 mg	90
Iso 10 mg	89	Iso 10 mg	75	Iso 10 mg	100
				Iso 10 mg	90
				Iso 10 mg	110

Tabla 2. En donde Cbz= Carbamazepina e Iso= Isoindolina.

<b>Tabla 3. Valores de las muestras sanguíneas para la enzima ALKP:</b>					
<b>TRATAMIENTO</b>	<b>Día 1 (UI/L)</b>	<b>TRATAMIENTO</b>	<b>Día 16 (UI/L)</b>	<b>TRATAMIENTO</b>	<b>Día 31 (UI/L)</b>
Vehículo	89	Vehículo	126	Vehículo	220
Vehículo	132	Vehículo	77	Vehículo	200
Vehículo	98	Vehículo	179	Vehículo	190
Vehículo	98	Vehículo	77	Vehículo	250
Vehículo	154	Cbz 20 mg	61	Vehículo	180
Vehículo	227	Cbz 20 mg	112	Vehículo	240
Cbz 20 mg	80	Cbz 20 mg	65	Cbz 20 mg	110
Cbz 20 mg	61	Cbz 20 mg	63	Cbz 20 mg	70

Cbz 20 mg	137	Cbz 20 mg	83	Cbz 20 mg	85
Cbz 20 mg	119	Cbz 20 mg	95	Cbz 20 mg	90
Iso 10 mg	231	Iso 10 mg	144	Cbz 20 mg	91
Iso 10 mg	161	Iso 10 mg	70	Cbz 20 mg	220
Iso 10 mg	188	Iso 10 mg	102	Iso 10 mg	60
Iso 10 mg	78	Iso 10 mg	107	Iso 10 mg	31
Iso 10 mg	214	Iso 10 mg	107	Iso 10 mg	210
Iso 10 mg	168	Iso 10 mg	141	Iso 10 mg	83
				Iso 10 mg	85
				Iso 10 mg	62

Tabla 3. En donde Cbz= Carbamazepina e Iso= Isoindolina.

<b>Tabla 4. Valores de las muestras sanguíneas para el analito TBIL:</b>					
<b>TRATAMIENTO</b>	<b>Día 1 (mg/dl)</b>	<b>TRATAMIENTO</b>	<b>Día 16 (mg/dl)</b>	<b>TRATAMIENTO</b>	<b>Día 31 (mg/dl)</b>
Vehículo	0.4	Vehículo	0.6	Vehículo	1.0
Vehículo	1.2	Vehículo	0.4	Vehículo	0.1
Vehículo	0.9	Vehículo	0.2	Vehículo	0.3
Vehículo	1.6	Vehículo	0.9	Vehículo	0.1
Vehículo	1.6	Cbz 20 mg	0.5	Vehículo	0.3
Vehículo	0.7	Cbz 20 mg	0.5	Vehículo	0.1
Cbz 20 mg	0.8	Cbz 20 mg	1.5	Cbz 20 mg	0.5
Cbz 20 mg	2.4	Cbz 20 mg	0.4	Cbz 20 mg	1.5
Cbz 20 mg	4.9	Cbz 20 mg	1.3	Cbz 20 mg	1
Cbz 20 mg	1.2	Cbz 20 mg	0.3	Cbz 20 mg	0.3
Iso 10 mg	2.8	Iso 10 mg	0.5	Cbz 20 mg	1.3
Iso 10 mg	0.6	Iso 10 mg	0.7	Cbz 20 mg	1
Iso 10 mg	0.1	Iso 10 mg	0.2	Iso 10 mg	1.3
Iso 10 mg	0.4	Iso 10 mg	0.4	Iso 10 mg	1
Iso 10 mg	0.5	Iso 10 mg	0.2	Iso 10 mg	0.8

Iso 10 mg	0.8	Iso 10 mg	0.2	Iso 10 mg	1.5
				Iso 10 mg	1.7
				Iso 10 mg	3

Tabla 4. En donde Cbz= Carbamazepina e Iso= Isoindolina.

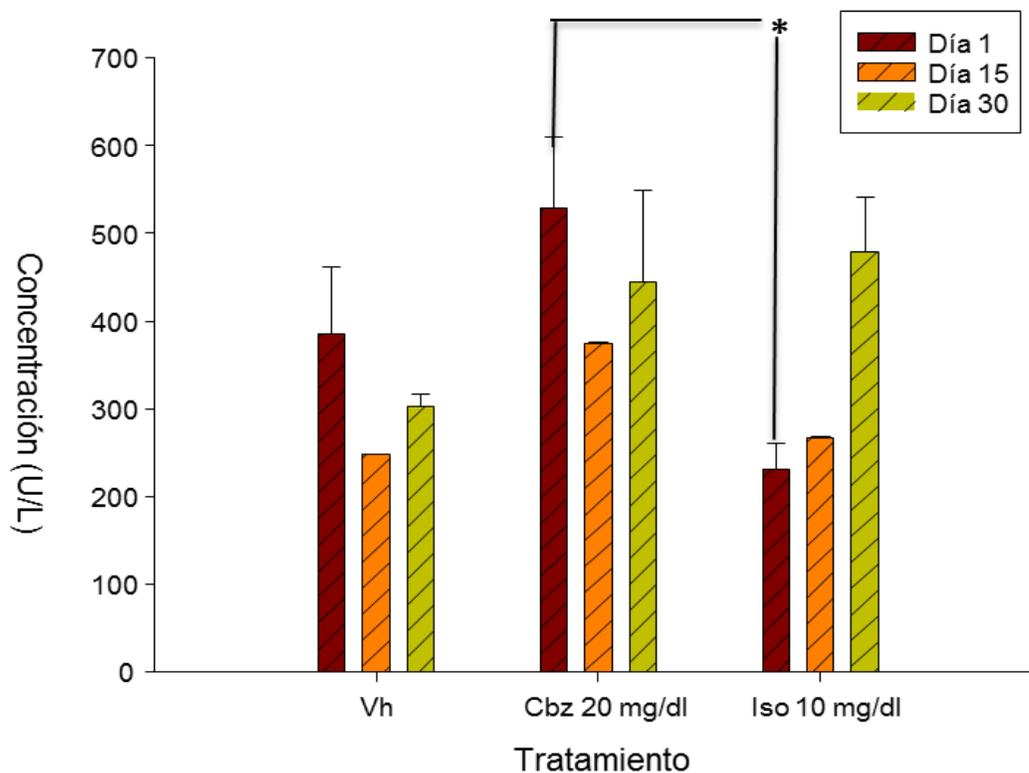
<b>Tabla 5. Valores de las muestras sanguíneas para el analito BI:</b>					
<b>TRATAMIENTO</b>	<b>Día 1 (mg/dl)</b>	<b>TRATAMIENTO</b>	<b>Día 16 (mg/dl)</b>	<b>TRATAMIENTO</b>	<b>Día 31 (mg/dl)</b>
Vehículo	0.1	Vehículo	0	Vehículo	0.1
Vehículo	0	Vehículo	0	Vehículo	1.8
Vehículo	0	Vehículo	0	Vehículo	0.4
Vehículo	0	Vehículo	0.1	Vehículo	0.9
Vehículo	0	Cbz 20 mg	0.1	Vehículo	0.4
Vehículo	0	Cbz 20 mg	0.2	Vehículo	1.5
Cbz 20 mg	0	Cbz 20 mg	0	Cbz 20 mg	3
Cbz 20 mg	0	Cbz 20 mg	0.2	Cbz 20 mg	0.5
Cbz 20 mg	0	Cbz 20 mg	0	Cbz 20 mg	1.5
Cbz 20 mg	0.1	Cbz 20 mg	0	Cbz 20 mg	3
Iso 10 mg	0	Iso 10 mg	0.1	Cbz 20 mg	2
Iso 10 mg	0.1	Iso 10 mg	0	Cbz 20 mg	0.9
Iso 10 mg	0	Iso 10 mg	0	Iso 10 mg	0.1
Iso 10 mg	0	Iso 10 mg	0.1	Iso 10 mg	0.1
Iso 10 mg	0	Iso 10 mg	0.2	Iso 10 mg	3
Iso 10 mg	0	Iso 10 mg	0	Iso 10 mg	3
				Iso 10 mg	0.1
				Iso 10 mg	0.2

Tabla 5. En donde Cbz= Carbamazepina e Iso= Isoindolina.

<b>Tabla 6. Valores de las muestras sanguíneas para el analito BD:</b>					
<b>TRATAMIENTO</b>	<b>Día 1 (mg/dl)</b>	<b>TRATAMIENTO</b>	<b>Día 16 (mg/dl)</b>	<b>TRATAMIENTO</b>	<b>Día 31 (mg/dl)</b>
Vehículo	0	Vehículo	0.2	Vehículo	0.3
Vehículo	0.7	Vehículo	0	Vehículo	1
Vehículo	0.6	Vehículo	0	Vehículo	0.5
Vehículo	0.6	Vehículo	0	Vehículo	1
Vehículo	0.5	Cbz 20 mg	0	Vehículo	0.7
Vehículo	0.1	Cbz 20 mg	0	Vehículo	1
Cbz 20 mg	0.1	Cbz 20 mg	0.9	Cbz 20 mg	1.7
Cbz 20 mg	0.4	Cbz 20 mg	0	Cbz 20 mg	3
Cbz 20 mg	1.1	Cbz 20 mg	0.4	Cbz 20 mg	2
Cbz 20 mg	0	Cbz 20 mg	0	Cbz 20 mg	1.5
Iso 10 mg	1	Iso 10 mg	0	Cbz 20 mg	0.1
Iso 10 mg	0	Iso 10 mg	0.2	Cbz 20 mg	1
Iso 10 mg	0	Iso 10 mg	0	Iso 10 mg	1.7
Iso 10 mg	0	Iso 10 mg	0	Iso 10 mg	1.5
Iso 10 mg	0.2	Iso 10 mg	0	Iso 10 mg	0
Iso 10 mg	0.4	Iso 10 mg	0	Iso 10 mg	2
				Iso 10 mg	1.5
				Iso 10 mg	1.7

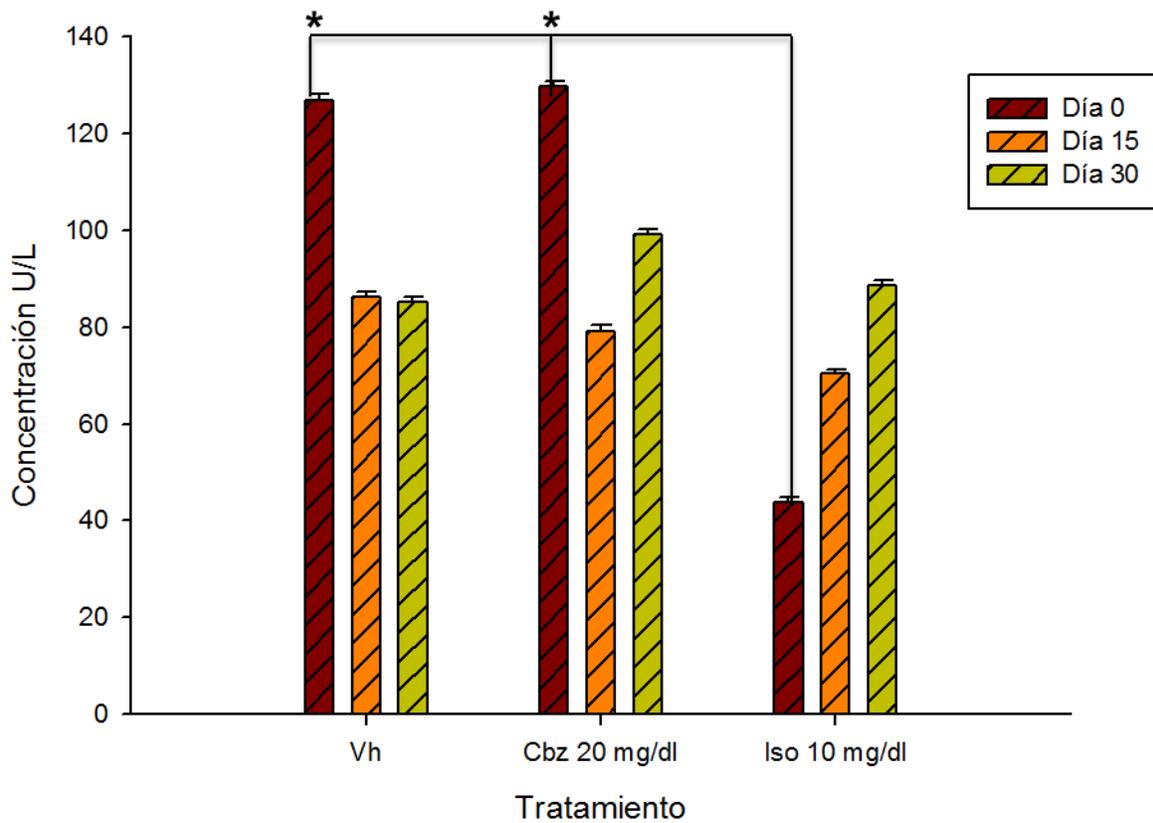
Tabla 6. En donde Cbz= Carbamazepina e Iso= Isoindolina.

Los datos se muestran como la media  $\pm$  el error estándar, en las siguientes graficas:



**Gráfica 1. Muestran el efecto de la administración de Cbz. e Iso. en las concentraciones de AST, en los grupos Vehículo (Vh), Carbamazepina (Cbz) e Isoindolina (Iso). Existiendo diferencias entre los grupos del Día 0, entre Cbz e Iso donde  $p < 0.05$  (\*)**

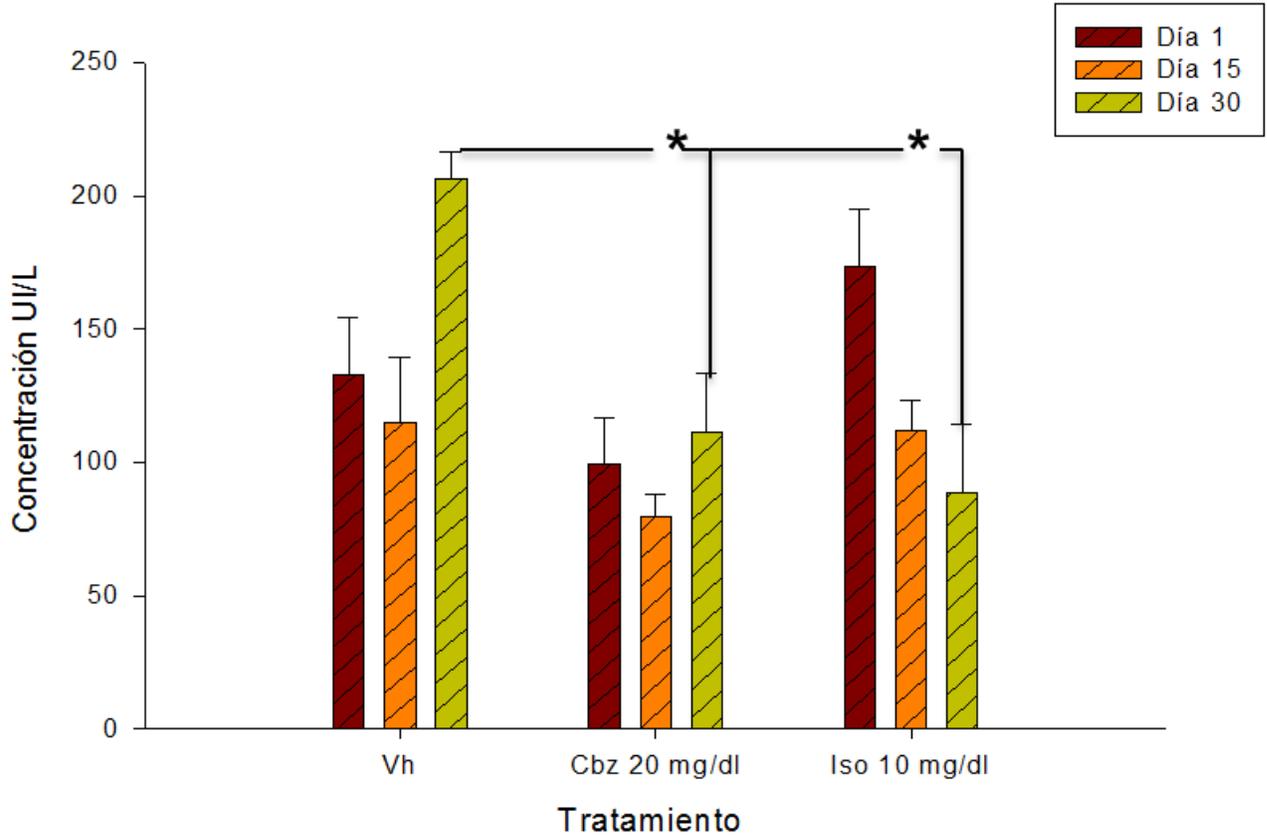
La gráfica 1 muestra diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de Cbz e Iso para el día 1 ( $F_{(15,0.05)} = 5.03$ ,  $p = 0.020$ ). Para el resto de los grupos (día 15 y 30) no se observan diferencias estadísticamente significativas ( $F_{(15, 0.05)} = 2.38$ ,  $p = 0.132$ ) y ( $F_{(17,0.05)} = 2.05$ ,  $p = 0.163$ ), respectivamente.



**Gráfica 2. Efecto de la administración de Cbz e Iso en la concentración de ALT después del tratamiento, donde Vehículo= Vh, Carbamazepina= Cbz e Isoindolina= Iso. No existen diferencias en estos grupos.**

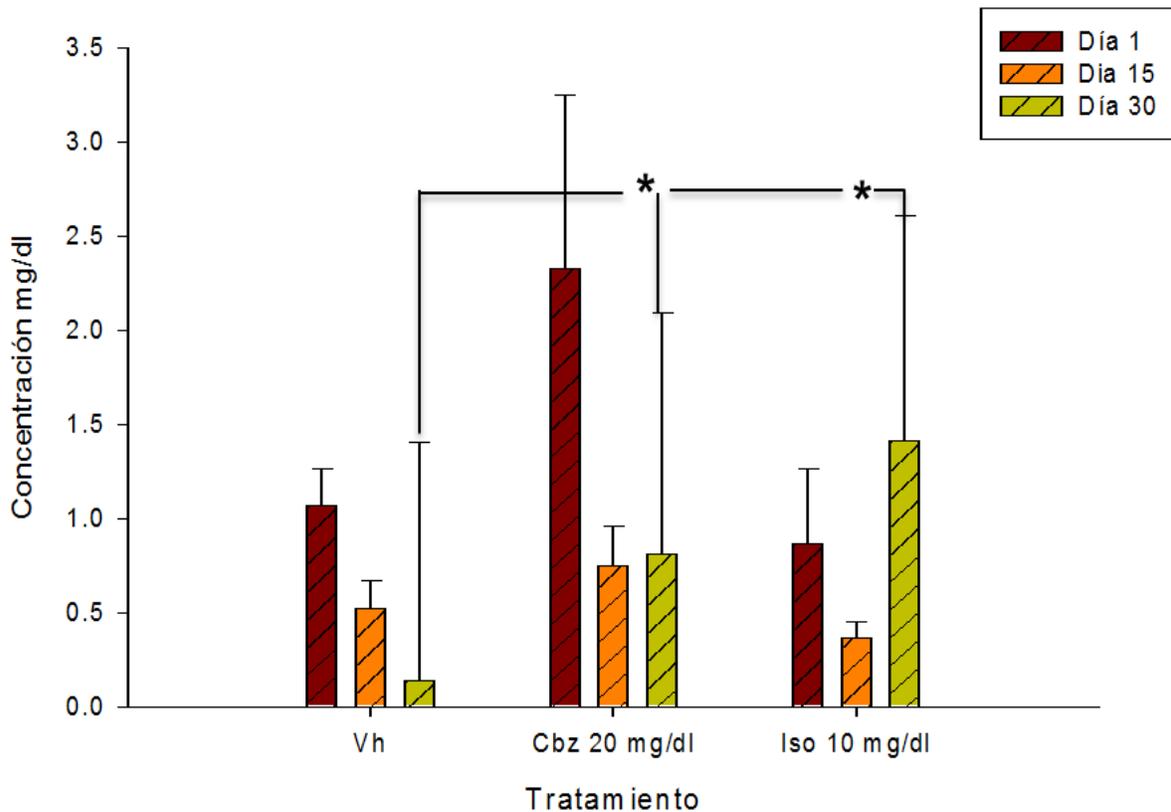
En la gráfica 2 estadísticamente se observan diferencias estadísticas en día 1, entre Iso con Vh y Cbz ( $F_{(15,0.05)} = 5.05$ ,  $p = 0.024$ ).

Para el día 0 ( $F_{(15,0.05)} = 5.05$ ,  $p = 0.024$ ). Para el día 15 ( $F_{(14, 0.05)} = 0.498$ ,  $p = 0.620$ ) y para día 30 ( $F_{(17,0.05)} = 0.370$ ,  $p = 0.697$ ).



**Gráfica 3. Efecto de la administración de Cbz e Iso en la concentración de FA, después del tratamiento; donde Vh=Vehículo, Cbz=Carbamazepina e Iso=Isoindolina. Existen diferencias entre los grupos para día 30; Vh con Cbz, e Vh con Iso, donde  $p < 0.05$  (\*)**

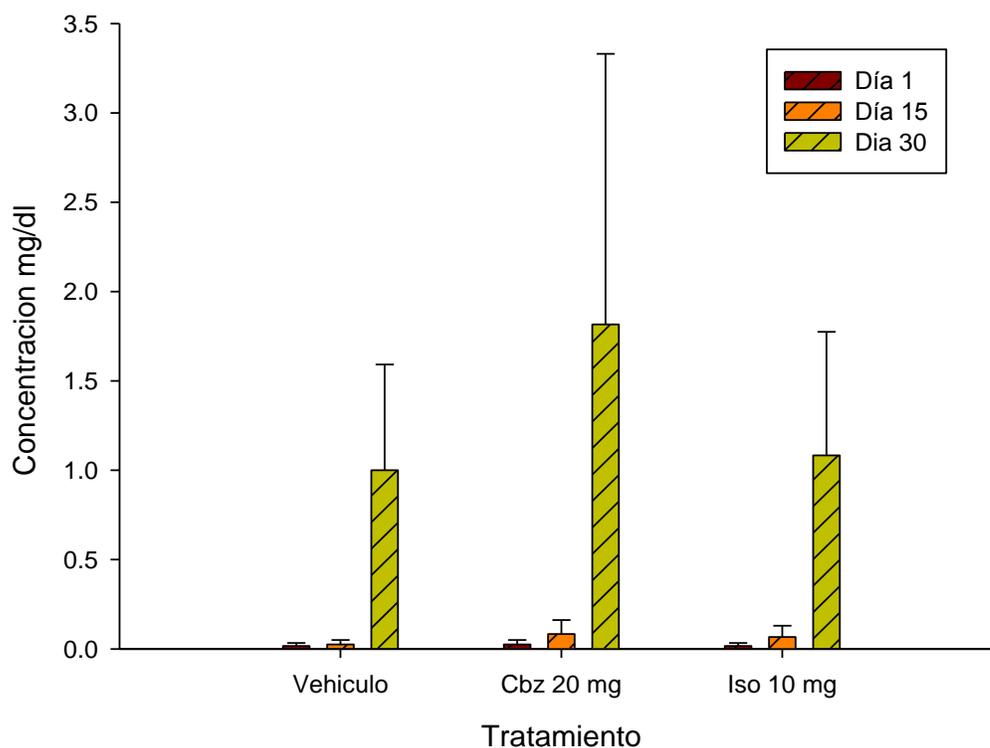
La gráfica 3 no muestra diferencia estadística significativa entre los grupos de día 1 ( $F_{(15,0.05)} = 2.782$ ,  $p = 0.099$ ) y día 15 ( $F_{(15,0.05)} = 2.070$ ,  $p = 0.166$ ), para día 30 se observan diferencias entre el grupo de Vh con el de Cbz ( $F_{(16, 0.05)} = 7.820$ ,  $p = 0.022$ ) e Iso ( $F_{(16, 0.05)} = 7.820$ ,  $p = 0.006$ ).



**Gráfica 4. Se muestra el efecto de la administración de Cbz e Iso en la concentración de TBIL. Donde se observan los valores de las concentraciones de la enzima de los grupos Vehículo (Vh), Carbamazepina (Cbz) e Isoindolina (Iso). Para el Día 30 se observan diferencias entre Vh y Cbz y Vh e Iso, donde  $p= 0.05$  (\*)**

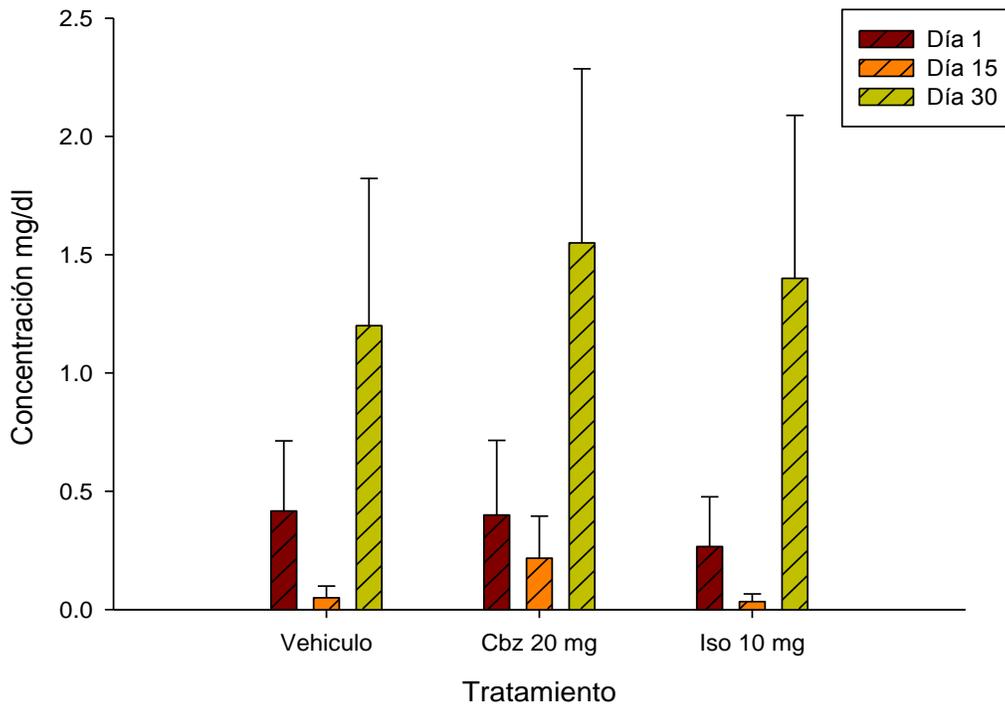
En la gráfica 4 no se muestra diferencias significativas entre los grupo del día 1 ( $F_{(15,0.05)}= 2.273$ ,  $p= 0.142$ ) y día 15 ( $F_{(14, 0.05)}= 1.608$ ,  $p=0.238$ ), para día 30 se observa una diferencia entre Vh y Cbz e Iso ( $F_{(17,0.05)}= 27.893$ ,  $p= <0.001$ ) en ambos casos.

Para las siguientes gráficas, se utilizó un modelo lineal generalizado con una distribución *poisson* graficando las medias  $\pm$  intervalos de confianza.



**Gráfica 5. Efecto de la administración de Cbz. e Iso, en la concentración de BI o no conjugada para los grupos Vehículo (Vh), Carbamazepina (Cbz) e Isoindolina (Iso). No existen diferencias en estos grupos.**

La gráfica 5 no muestra diferencias estadísticamente significativas entre los grupos, ( $\chi^2_{(2, 0.05)} = 0.0104$ ,  $p = 0.994$ ).



**Gráfica 6. Efecto de la administración de Cbz. e Iso. en la concentración de BC o conjugada durante el tratamiento; donde Vh=Vehículo, Cbz=Carbamazepina e Iso=Isoindolina. No se encontraron diferencias en estos grupos.**

En la gráfica 6 no se observan diferencias estadísticamente significativas entre los grupo, ( $\chi^2_{(2, 0.05)} = 0.9023$ ,  $p = 0.6368$ ).

## 11. Discusión

Respecto a las enzimas AST y ALT, siendo esta última más hepatoespecífica, podemos notar una elevación en ambas para las concentraciones de Cbz del Día 30. En relación con lo mencionado en la literatura donde no se ha demostrado que la determinación de una sola de las transaminasas tenga mayor interés clínico, se ha distinguido la determinación de ambas, teniendo cierto valor diagnóstico en etiología hepática, donde los valores de ALT son superiores a los de AST, por lo que mencionar una hipertransaminasemia de origen hepático sugiere agresión hepática lenta, cirrosis, esteatosis, inflamación, casos de hepatitis crónicas, víricas o tóxicas (Sánchez, 2004).

Por su parte los resultados obtenidos para la fosfatasa alcalina (FA), muestran una disminución del grupo de Cbz en relación al grupo control. Aunque la FA es una enzima que está en casi todos los tejidos del organismo, incluyendo huesos, intestinos, hígado, vías biliares, etc. podemos observar valores alterados en patologías de tipo hepatobiliar, cirrosis biliar, metástasis hepáticas, hígado graso y patologías hepáticas graves como cirrosis y hepatitis (inflamación del hígado) en donde la fosfatasa alcalina está menos aumentada que las transaminasas AST y ALT (Dufour, 2005; Revista el médico interactivo, 2011; Alonso, 2013).

Para el caso de las bilirrubinas se expresa elevado el grupo de Cbz en relación al grupo normal. Según la literatura dentro de las causas más importantes para la hiperbilirrubinemia indirecta están la hepatitis por drogas, sobreproducción por hemolisis, eritropoyesis ineficaz, anemias causada por deficiencia de vitamina B12, ácido fólico y hierro, en estos casos las enzimas hepáticas estarán normales; otra causa es la disminución en la captación y almacenaje de bilirrubina por el hepatocito que puede ser por fármacos o algún síndrome, y por último debido a la disminución de la conjugación de bilirrubina causada por deficiencia de la enzima glucoronil transferasa, esta deficiencia puede presentarse de manera congénita o provocada por ciertas drogas. La hiperbilirrubinemia directa se puede presentar por una alteración en la excreción intrahepática por desórdenes hereditarios;

alteraciones en la excreción intrahepática por desórdenes adquiridos, como hepatitis crónicas de diversas etiologías; y obstrucción biliar extrahepática (Calmet Bruhn, 2011).

Según la información anterior, el comportamiento de los analitos para el grupo de Cbz. podría sugerir un daño hepático, justificado por la alteración de las transaminasas, probablemente una hepatitis. Para poder complementar este supuesto, sería importante poder constatarlo con la observación del corte histológico del hígado del animal, en busca de algún tipo de inflamación o característica que indique daño hepático.

En lo que corresponde a los grupos de Isoindolina, si bien la AST muestra un aumento levemente mayor que Cbz, para los demás analitos las concentraciones de Iso son menores que esta, considerando lo anterior la AST podría haber salido alterada por factores ajenos a la administración del medicamento, por ejemplo la manipulación o estrés del animal.

## **12. Conclusiones**

Durante los primeros 15 días de tratamiento, las concentraciones de todas las pruebas bioquímicas de los grupos experimentales no se observan afectadas, lo cual indica que no hay daño a nivel hepático hasta esta etapa del tratamiento.

A los 30 días de tratamiento, los niveles de AST, ALT y bilirrubinas, se encuentran elevados para los grupos Cbz e Iso, sin embargo, las concentraciones en el grupo de Isoindolina son menores al ser comparadas con el control farmacológico. Por lo anterior podemos decir que, bioquímicamente los sujetos experimentales para el día 30 de Cbz pudieran cursar un proceso inflamatorio a nivel hepático, presuntivo de hepatitis.

Por lo que, a este nivel de tratamiento los efectos hepatotóxicos causados por Cbz son mayores a los que genera el derivado de Isoindolina.

## **13. Propuesta.**

Sugerimos realizar el mismo estudio comparativo de la administración crónica de los compuestos, el cual podría realizarse durante 90 días de administración, sugiriendo una toma de muestra los días 30, 60 y 90. Para lo cual se necesitara animales de mayor tamaño y fácil manipulación, por ejemplo ratas de la cepa Wistar. Este estudio evidenciaría el daño a nivel hepático, debido a que la mayoría de las terapias con estos fármacos están estipuladas de por vida y bajo un uso crónico. Por lo tanto nos permitirá poder observar una diferencia más marcada entre cada grupo experimental.

De igual manera, es necesaria la valoración de los cortes histológicos provenientes de tejido hepático de los sujetos en tratamiento, para hacer más preciso este tipo de estudios.

## 14. Referencias

- Abdel-Monem, A., & Hafez, A. (2004). Synthesis and Anticonvulsant Evaluation of N-Substituted-Isoindolinedione Derivatives. *Archive of Pharmacal Research*, 27(5).
- Acosta Hernandez, M. E. (2009). *Evaluación del efecto anticonvulsivante de isoindolinas-2-substituidas: (s)-2-(isoindol-2-il)-4-metiltiobutanoato de metilo, (s)-2-(isoindol-2-il)3-fenilpropanoato de metilo y (s)-3-(1H-indol-3-il)-2-(isoindolin-2-il) propanoato de metilo en ratas macho d.* Xalapa, Mexico: Universidad Veracruzana. Instituto de Neuroetología.
- Alfonso R., G. (2003). *Remington Farmacia. Vol 2 (Vol. 2).* Medica Panamericana.
- Alonso, C. (2013). *Scomo.* Recuperado el 2013, de <http://salud.uncomo.com/articulo/cuales-son-las-causas-de-la-fosfatasa-alcalina-elevada-20792.html>
- Al-Qaisi, J., Alhussainy, T., Qinna, N., & et al. (2011). Synthesis and pharmacological evaluation of aminoacetylenic isoindoline-1,3-dione derivatives as anti-inflammatory agents. (Elsevier, Ed.) *Arabian Journal of Chemistry*.
- Alzate Monsalve, D. C., & Carrizoza Moog, J. (2004). Mutaciones de los canales neuronales de sodio y cloro asociadas a epilepsia generalizada con convulsiones febriles plus. *Scielo*, 17(2).
- Armijo, J. (2003). Fármacos antiepilépticos y anticonvulsivos. *Farmacología humana*, 23.
- Armijo, J. A. (2003). Fármacos antiepilépticos y anticonvulsivos . *Farmacología humana*, 1-23.
- Armijo, J., de las Cuevas, I., & Adin, J. (2000). Canales iónicos y epilepsia. *Revista de Neurología*(Supl 1).
- Armijo, M. R. (2001). Estudio de seguridad de medicamento. *Farmaindustria*.
- Bjornsson, E. (Febrero de 2008). Hepatotoxicity associated with antiepileptic drugs. *Acta Neurol Scand*, 1-10.
- Bruluard, I. y. (2013). *BRUCARCER.* Recuperado el 29 de agosto de 2013, de [www.medicamentos.com.mx/DocHTML/28177.htm](http://www.medicamentos.com.mx/DocHTML/28177.htm)

- Bustamante, S. E. (2003). Fármacos antiepilépticos y anticonvulsivantes. *Biblioteca virtual universal*.
- Bustos L., A., Siguenza A., B., & Sari D., A. (2012). Tesis. *Cuantificación plasmática de los niveles de Cbz, Fenitoina y Acido Valproico en pacientes epilepticos..* Universidad de Cuenca. Facultad de ciencias químicas.
- Calmet Bruhn, F. (2011). Síndrome Ictérico. *Topios selectos en medicina interna.*, 432-443.
- Calvo-Villas, J. M., García Sánchez, F., Hernández Martín, J., & et al. (1998). ANEMIA APLÁSICA Y CARBAMAZEPINA. *Farm Hosp*, 22(1), 1-3.
- Chavez Cortes, E. (Diciembre de 2006). Hepatotoxicidad por fármacos. *Revista biomedica revisada por pares*.
- ChemSynthesis. Chemical Database.* (2008-2013). Recuperado el 15 de julio de 2013, de <http://www.chemsynthesis.com/ring-fused/indolines/page-1.html>
- Chilo Nuñez, H. (1999). El citocromo P450 y su Roll en la hepatotoxicidad inducida por las drogas. *Enfermedades del Aparato Digestivo*, 2(2), 34-37.
- De la Espriella Perdomo, M., Mendoza Bermúdez, C., & Vides Sanjuá, M. (2010). Efectos hematológicos por el uso de ácido valproico y carbamazepina. *Los medicamentos*.
- Dios, J. G., Ochoa Sagrador, c., & Sempere, A. (2005). Fármacos genéricos en el tratamiento de la epilepsia. *Revista de Neurología*, 11.
- Dufour, R. (2005). Guía de laboratorio para screening, diagnóstico y monitoreo de lesión hepática. *Acta bioquímica clínica latinoamericana* .
- Dufour, R. (octubre de 2008). Guías del laboratorio para screening, diagnóstico y monitoreo de la lesión hepática. *Universia*.
- Elices , E., & Arroyo, S. (2001). Epilepsias parciales farmacorresistentes. Estrategias terapéuticas en el adulto. *Revista de Neurología*, 1-5.
- Fejerman, N., & Caraballo , R. (2009). *Tratamiento de las Epilepsias*. Medica Panamericana.
- Fernánde, M. V. (2009). Efectos nutricionales de los anticonvulsivantes. *Revista biomedica MEDWave*.

- Fernández, V. L. (julio de 2008). Influencia de los factores genéticos en la hepatotoxicidad secundaria a Fármacos antituberculosos. Santiago de Compostela: Universidad de Santiago de Compostela.
- Fuentes Arderiu, Castañeiras Iacambra, & Queralto Compañó. (1998). *Bioquímica Clínica y Patología Molecular*.
- García, S., Sauri Suarez, S., & Meza, E. (2013). Estado epileptico (status epilepticus) urgencia neurológica. *Asociación Mexicana de Medicina, crítica y terapia intensiva.*, 27(1), 43-52.
- Geyer, M., Ellenbroek, B., & Marsden, C. (2010). *Behavioral Neurobiology of Anxiety and Its Treatment* (1 ed.). San Diego: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Godoy, D., Boccio, A., & Milani, H. (2013). Intoxicación aguda grave con carbamazepina. *Revista Neurocirugía*(2).
- Grau, E. S., Gallardo Díaz, E., & Martínez Peralta, S. (s.f.). Fármacos antiepilépticos en situaciones especiales. *SERVICIO DE ONCOLOGÍA MÉDICA*.
- Gram, L., Mogens, & Dam. (1996). *Epilepsia* (1 ed.). Argentina: Medica Panamericana.
- Gutiérrez Grobe, Y., Carlos Chávez, N., Méndez Sánchez, N., Kobashi, R., & Uribe, M. (2010). Hígado graso no alcohólico y esteatohepatitis no alcohólica: conceptos actuales. *REVISTA de gastroenterología de México*, 1-6.
- Herranz, J. (2002). Canalopatías: un nuevo concepto en la etiología de las epilepsias. *Boletín pediátrico*, 42(179), 1-11.
- Hosomi, H., Yoshikawa, Y., Fukami, T., & et al. (2009). Establishment of knockdown of superoxide dismutase 2 and expression of CYP3A4 cell system to evaluate drug-induced cytotoxicity. *toxicology in vitro*.
- ILAE. (2010). Propuesta de la ILAE de Terminología Revisada por la Organización de Crisis y Epilepsia.
- Izaguirre, v., & Zavaleta, A. (1998). Canales de calcio voltaje dependientes. *Ciencia e investigación*, 1(1).
- Joule, J., & Mills, K. (2013). *Heterocyclic Chemistry* (5 ed.). Wiley.

- Korolkovas, A., & Burckhalter, J. (1983). *Compendio esencial de química farmacéutica*. España: Reverte.
- Lösher, W. (2002). Animal models of epilepsy for the development of antiepileptic and disease-modifying. A comparison of the pharmacology of kindling and post-status epilepticus models of temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res*.
- Magariños, G. (2012). *dermato101*. Recuperado el 22 de julio de 2013, de <http://www.dermato101.com.ar/tecnica.pdf>
- Malo, C. M. (2004). *Epilepsia: aspectos clínicos y psicosociales*. Bogota: Medica Panamericana.
- Mancilla-Percino, T., Correa-Basurto, J., Trujillo-Ferrara, J., Ramos-Morales, F., Acosta Hernández, M., & Cruz-Sánchez, J. (2010). Molecular modeling study of isoindolines as L-type Ca(2+) channel blockers by docking calculations. *REvista de modelado molecular*, 16.
- Marino, S., Birnbaum, A., & Leppik, I. (2012). Farmacocinetica de la Cbz, en pacientes administrados aral e intravenosamente. Efecto de raza y sexo. *Clinical pharmacology & Therapeutics*, 9.
- Mayor, L. C. (1999). Tratamiento médico de la epilepsia. *Guia Neurologica*, 1-8.
- Medina Marin, D., & Escobar Betancourth, M. (2002). Sistema glutamatergico, primera parte: sinaptologia, homeostasis y muerte celualr. *Revista colombiana de Psiquiatria*, 31(3).
- Medel-Matus, J. S., Cortijo-Palacios, L. X., Gasca-Pérez, E., & et al. (2011 ). Receptor GABAA: implicaciones farmacológicas a nivel central. *Catálogo de Revistas Biomedicas Mexicanas*, 16(1), 40-45.
- Mendoza Patiño, N. (2008). *Farmacología Medica*. Medica Panamericana.
- Micheli, F. (2002 ). *Tratado de neurología clínica* (1 ed.). Buenos Aires Argentina: Ed. Médica Panamericana.
- MN, S., & Pellock, J. (2002). Evaluación de los Riesgos y Beneficios del Uso de Carbamazepina en Niños. *Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC)*.
- Moreira, F., & Lopez San Roman, A. (2006). Colestasis crónicas. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 98(1).

- Moreno, A., Gonzalez, A., Mendoza, J., Garcia , L., & Moreno, O. (Enero de 2007). Utilidad de los parámetros analíticos en el diagnóstico de las enfermedades hepáticas. *Anales de Medicina Interna*, 24(1).
- Moreno, H., & Moreo , C. (2005). Transmisión sináptica-canales de calcio y liberación de neurotransmisores. *Revista Ciencias de la Salud*, 3(1).
- Muñoz, C. R. (Diciembre de 2009). Evaluación teórica y experimental de una serie de isoindolinas como agentes antitumorales. Mexico DF.
- Muriel Villoria, C. (2007). *Dolor Cronico*. (Vol. volumen 4). Arán Ediciones.
- Nogales-Gaete, J. (2005 ). *Tratado de Neurología Clínica* (1 ed.). Santiago de Chile: Editorial Universitaria.
- Ortega, F. V. (1998). *Tratamiento de la epilepsia*. Madrid: Diaz de Santos.
- Palacios, L. X. (noviembre de 2009). Tesis. Síntesis de un nuevo derivado de isoindolinas con variación estructural en el anillo aromático con potencial actividad biológica a partir de alfa-aminoácidos”. XAlapa.
- Planjar-Prvan, M., Bielen , A., & Sruck, A. (2013). Hepatotoxicidad aguda por Oxocarbamazepina en un paciente susceptible a lesión hepática por medicamentos. *Coll. Antropol.*
- Prasad,, S., Prasad, M., & Revanasiddappa, H. (2010). Synthesis, Characterization, Antimicrobial Activity, and DNA Interaction Studies. *Bioinorganic Chemistry and Applications*, 1-9.
- RA, S. D. (2004). Antiepilépticos: aportación de los nuevos fármacos. *Información terapéutica del sistema nacional de salud*, 28(2), 8.
- Ramos Morales, F. R., Correa Basurto, J., Cruz Sanchez , J., & et al. (2010). Participación de los canales de calcio dependientes de voltaje en el desarrollo de la epilepsia. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 44(3).
- Rengifo, A., & Torres Fernandez, O. (2007). Disminución del número de neuronas que expresan GABA en la corteza cerebral de ratones infectados con rabia. (I. n. Bogota, Ed.) *Biomedica*. , 27.
- Revista el medico interactivo*. (2011). Recuperado el 2013, de [http://2011.elmedicointeractivo.com/formacion\\_acre2007/pdf/1072.p](http://2011.elmedicointeractivo.com/formacion_acre2007/pdf/1072.p)
- Ridaura-Sanz, C. (julio-agosto de 2008). La biopsia en el diagnóstico de la enfermedad pediátrica. *Acta Pediátrica de Mexico*, 29(4), 216-226 (119).

- Risso, M. V. (2008). Hepatotoxicidad; enfoque clínico y toxicológico. En H. J. Fernandez (Ed.), *Catedra de toxicología*, (págs. 1-33). Buenos Aires.
- Rodriguez Solano , A. (2005). *Guía de laboratorio de histología*. Editorial de la Universidad de Costa Rica.
- Rodriguez, C., Guevara, V., & Lobo, G. (2010). Mecanismo de Acción de los Fármacos Antiepilépticos. *Informe medico*.
- Rodriguez, M., Bautista Montagud, J., Roberto , J., Mayol, M.-J., & Merino, J. (Nov de 2002). Hepatitis granulomatosa idiopática con orquiepididimitis bilateral y erupcion cutanea. *Revista Medica de Chile*, 130(11).
- Ruza , F. (2003). *Cuidados intensivos pediatricos* (Vol. II). Capitel Editores.
- Saigí Grau, E., Gallardo Díaz, E., & Martínez Peralta, S. (2013). *seom.org*. Recuperado el 20 de julio de 2013, de [www.seom.org/seomcms/images/stories/.../antiepilepticos/capitulo7.pdf](http://www.seom.org/seomcms/images/stories/.../antiepilepticos/capitulo7.pdf)
- Sainz Diaz, R. A. (2004). Antiepilépticos. Aportacion de los nuevos farmacos. *Informacion terapeutica del sistema nacional de salud*, 28(2).
- Salcedo Posadas, García Novo, M. D, A., & García Novo, M. (1998). *Fibrosis quística* (1 ed.). Madrid España: Diaz de Santos.
- Sanchez Alvarez, J., Galan Barranco , J., Camino Leon, R., & et al. (2005). Terapéutica antiepiléptica crónica en el adulto y en el niño. *Revista de NEurología* *Guía terapéutica en epilepsia de la Sociedad Andaluza de Epilepsia*, 40, 1-8.
- Sanchez Milla , J., & Fernandez Alvarez , F. (2004). Valoracion inicial de las hipertransaminasemis en los reconocimientos médicos. *Sociedad Española de la Salud en la Administracion Publica*, 1(10).
- Santos, N., Medina, W., Martins, M., & et al. (2008). Involvement of oxidative stress in the hepatotoxicity induced by aromatic antiepileptic drugs. *Toxicology in vitro*, 1-5.
- Santos, N., Medina, W., Martins, N., & et al. (2008). Aromatic antiepileptic drugs and mitochondrial toxicity: Effects on mitochondria isolated from rat liver. *Toxicology in vitro*, 1-10.
- Scholtz Gonzalez, H., & Navarro Restrepo, C. E. (2006). *Neurocirugia para medicos generales* (1era ed.). Colombia: Universidad de Antioquia.

- Sedky, K., Racha, N., Joshi, A., & at al. (2012). Which psychotropic medications induce hepatotoxicity? *General Hospytal Psychiatry*.
- Sell Salazar, F. (2003). *Epilepsia en la niñez* (2 ed.). Costa Rica: Hipertexto Ltda.
- Servillo., A. (2013). *America Lab Servillo S.A.* Recuperado el 20 de julio de 2013, de <http://www.americallab.net/laboratorio/pruebas-de-funcion-hepatica-.html>
- Suarez, J. H. (2007). Antiepileptic and cognitive changes in epilpsy. *Acta neurologica colombiana*, 8.
- Tejada Cifuentes, F. (octubre de 2010). Hepatotoxicidad por Fármacos. *Revista Clínica de Medicina de Familia*, 3(3).
- Torres Zambrano, M., & Bustos SAnchez , J. L. (2011). Fisiopatología del estatus epiléptico. *Acta Neurologica colombiana*, 1-20.
- Torres Zambrano, M., Castillo, E., & Camargo Ballestas, J. (Diciembre de 2007). Resistencia farmacologica en epilepsia. *Acta Neurologica Colombiana*, 3(4), 278-285.
- Vallejo, M. S. (2009). *Tratado de Psicofarmacología: Bases y aplicación clínica* (2 ed.). Buena Aires : Médica Panamericana.
- Weiss, F., Henkens, M., & Pinel, J. (2010). Medicamentos esenciales. Guia practica de utilizacion. En W. H. Organization (Ed.), (pág. 362).
- Winter, M. E. (1994). *Farmacocinética clínica básica* (2 ed.). Madrid, España: Ediciones Díaz de Santos.
- Wikipedia. The Free Encyclopedia.* (jun de 2013). Recuperado el 15 de julio de 2013, de <http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Isoindoline>
- Yusta Izquierdo, A. (2005). Crisis convulsivas. Concepto, clasificacion y etiologia. *Emergencias*, 68-73.
- Zapata Martinez , A., & Vergel Rivera, G. (2005). Aspectos farmacológicos relevantes de los antiepilépticos nuevos. *Revista Cubana de Medicina General Integral*.
- Zuleta, E. B. ( 2007 ). *El sistema nervioso : desde las neuronas hasta el cerebro humano* (1 ed.). Univesidad de Antioquia.