


Ensayo de toxicidad oral a dosis repetidas de 28 días de la combinación de ivermectina, azitromicina y acetaminofén en ratones CD1

Repeated dose 28-day oral toxicity of ivermectin, azithromycin and acetaminophen in CD1 mouse

Grizelda Arizandieta¹, Belsy Quevedo¹, Raiza Valencia¹, Juan Sánchez¹, Laura García¹, Rosa Linares¹, Roberto Lucas-Estrada¹, Sindy C. Cardona¹, Rocío Telón¹, Sheily Soto¹, Lidia Vásquez¹, Cristian González², Rodrigo Castañeda², Daniela Villatoro ¹, Juan J. Chávez ¹, Manuel Lepe-López ^{1-3*}

¹Programa de Maestría en Ciencia Animal, Escuela de Estudios de Postgrado, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia y ²Bioterio de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala. ³Centro de Investigación para la Sustentabilidad, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad Andrés Bello, Santiago de Chile.

*Autor al que se dirige la correspondencia: mlelopez@gmail.com

Recibido: 10 de octubre 2022 / Revisión: 24 de enero 2023 / Aceptado: 30 de mayo 2023

Resumen

La crisis del Covid-19 desencadenó la automedicación con fármacos de venta libre por público en general. La Organización Mundial de la Salud sugiere ensayos clínicos para establecer los riesgos de los medicamentos usados durante la pandemia. El objetivo del estudio es evaluar los efectos tóxicos de la combinación de tres fármacos de venta libre (ivermectina, azitromicina y acetaminofén) sobre la salud de un modelo animal estandarizado (ratones *Mus musculus* CD1). Se realizó un ensayo de toxicidad a dosis repetidas durante 28 días en 21 ratones, divididos en tres grupos: control, dosis y sobredosis. Se midieron valores hematológicos, bioquímicos e histopatológicos para evaluar la salud de los grupos experimentales. Se encontraron alteraciones significativas en el peso ($p < .001$), en el hematocrito ($p < .001$), la hemoglobina ($p < .001$), los glóbulos blancos ($p < .001$), los linfocitos ($p < .06$), los glóbulos rojos ($p < .001$), el nitrógeno de urea ($p < .05$), la urea ($p < .05$) y en la proteína total ($p = .06$). Las lesiones macroscópicas congruentes fueron hígado friable ($n = 2$) y bordes pálidos del hígado ($n = 4$) aunadas a lesiones microscópicas de degeneración hidrópica del hígado ($n = 11$), descamación epitelial en intestino ($n = 8$), hialinización en riñón ($n = 7$) y tumefacción turbia en hígado ($n = 5$) de un total de 21 ratones. Las sobredosis repetidas redujeron la salud de los individuos experimentales. Se discuten las implicaciones en la salud derivadas de la automedicación repetida con estos fármacos.

Palabras clave: Automedicación; venta libre de fármacos; Covid-19; Sars-Cov-2; Ensayo OECD 407

Abstract

The Covid-19 health crisis in Guatemala triggered self-medication with over-the-counter drugs among population. The World Health Organization suggests clinical trials to establish the risks of drugs used during the pandemic. The purpose of the current study is to evaluate the health toxic effects of three combined over-the-counter drugs (ivermectin, azithromycin and acetaminophen) on a standardized animal model (*Mus musculus* CD1 mice). An oral repeated dose toxicity assessment was performed in for 28 days, in 21 mice divided into three groups: control, dose and overdose. Hematological, biochemical, and histopathological values were estimated to assess the health status of the experimental groups. Significant changes were found in weight ($p < .001$), hematocrit ($p < .001$), hemoglobin concentration ($p < .001$), white blood cell count ($p < .001$), lymphocytes count ($p < .05$), red blood cell count ($p < .001$), blood urea nitrogen ($p < .05$), urea ($p < .05$), and total protein ($p = 0.06$). The consistent macroscopic lesions were friable liver ($n = 2$) and pale edges of the liver ($n = 4$); with also microscopic lesions of hydropic degeneration in the liver ($n = 11$), epithelial desquamation of intestinal cells ($n = 8$), hyalinization in the kidney ($n = 7$) and cloudy swelling in the liver ($n = 5$). Repeated overdoses of ivermectin, azithromycin, and acetaminophen decreased the health of experimental subjects. The health implications of repeated self-medication with these drugs are discussed.

Keywords: Self-medication; Over-the-Counter Medicines; Covid-19, Sars-Cov-2, OECD Test Guideline 407



Introducción

La crisis sanitaria del Covid-19 desencadenó en Guatemala (entre otros impactos) la automedicación con fármacos de venta libre por público en general (Tejada & Medina-Neira, 2020). La automedicación en este país centroamericano no es un fenómeno reciente o exclusivo de los casos del Síndrome Respiratorio Agudo Severo SARS-CoV-2 en humanos, no obstante, debido a la alarma social se presume un aumento en la automedicación de países pobres con posibles consecuencias para la salud pública (Miñan-Tapia et al., 2020). A pesar de que la automedicación se interpreta como un comportamiento contrario a la ética, esta acción podría estar provocada por una distribución desigual de la carga financiera ante las epidemias, sumado a los bajos niveles de cobertura de seguros, así como los bajos niveles de acceso a los servicios públicos en salud (Bowser & Mahal, 2011). Además, el escenario mencionado podría variar en otros países de la región y pudo agravarse ante los niveles de analfabetismo locales de alrededor del 20% (Instituto Nacional de Estadística [INE], 2019), causando incluso la sobre-dosificación de las personas como una respuesta social y alarmista ante la pandemia de Covid-19.

Entre las desventajas de la automedicación esta la carencia del monitoreo médico, la reducción de la disponibilidad de fármacos por alta compra, los accidentes toxicológicos en niños, la disminución de la efectividad de los antimicrobianos y los efectos secundarios por ausencia de la enfermedad (Tejada & Medina-Neira, 2020). La supuesta ventaja de este accionar sería el ahorro económico por atención médica. No obstante, la automedicación está fundamentada en un sentido de falsa seguridad porque obliga a las personas a tomar en cuenta opiniones sin evidencia científica e incluso creencias conspirativas con mayores consecuencias económicas y sanitarias (Jaiswal et al., 2020). Por ejemplo, en el curso de la pandemia de Covid-19 el expresidente de Estados Unidos (Donald Trump) sugirió el uso de la cloroquina y la hidroxicloroquina para el tratamiento de SARS-CoV-2 aun en ausencia de ensayos clínicos aleatorizados de alto poder estadístico (caso contrario fueron los ensayos clínicos aleatorizados con pacientes enfermos para evaluar los posibles efectos antivirales del remdesivir) (Paumgartten & de Oliveira, 2020).

Esta sensación de falsa seguridad de la automedicación es preocupante por su posible interacción con la morbilidad de enfermedades infecciosas. Por ejemplo, una encuesta con estudiantes de ciencias de la salud de la Universidad de Tacna en Perú, reportó

una prevalencia elevada de automedicación de hasta el 62.2% durante la crisis de Covid-19 (Miñan-Tapia et al., 2020). De manera similar, una revisión sistemática de 14 países de África mostro una oposición de las políticas internas hacia las recomendaciones preventivas respecto al uso de las cloroquinas (Belayneh, 2020). Lo anterior ha resultado en la automedicación con distintos ingredientes activos, entre los que se pueden mencionar a nivel global a la cloroquina, hidroxicloroquina, amodiaquina, azitromicina, remdesivir, favipiravir, ritonavir/lopinavir, umifenovir, oseltamivir, ribavirina, nafamostat, camostat, tocilizumab, ivermectina, nitazoxanida, famotidina, vitamina D, corticoides y dexametasona. No obstante, aunque existen estudios promisorios, existe la escasez de datos sobre su efectividad y seguridad que permitan elaborar conclusiones asertivas (Neupane et al., 2020).

En el caso de Guatemala, entre los medicamentos de venta libre que se administraron comúnmente ante la pandemia de Covid-19 se encuentran las avermectinas, los analgésicos no esteroideos y los antimicrobianos. Posiblemente lo anterior fue suscitado por las autoridades sanitarias en comunicaciones públicas denominadas “Kit de Medicamentos para COVID 19” disponible en línea y compartidos por los usuarios por medio de las redes sociales (Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social [MSPAS], 2020). Dentro de este grupo de fármacos sugeridos la avermectina denominada ivermectina, es tal vez, el medicamento predilecto para la automedicación a inicios de la pandemia, debido a un estudio *in vitro* que sugiere que esta molécula puede disminuir la replicación del virus implicado en las infecciones (Caly et al., 2020). Otro de los medicamentos administrados, el analgésico no esteroideo llamado acetaminofén, es de uso tan común que otorga a los usuarios una falsa sensación de seguridad al automedicarlo, siendo capaz de provocar cuadros de toxicidad aguda por su frecuente uso en humano (Schjødt et al., 1997). Por otra parte, debido a que el cuadro de SARS-CoV-2 afecta el sistema respiratorio de los pacientes, se empleó el antimicrobiano de nombre azitromicina, como un medicamento que reduciría la posibilidad de infecciones bacterianas secundarias.

Estos medicamentos tienen varios y amplios efectos en el organismo debido a que su generación en la industria farmacéutica corresponde a otros propósitos distintos a contrarrestar un virus ARN, lo que podría ser contraproducente a la salud de los individuos que se automedicaron sin vigilancia médica (Gérard et al., 2020). Por ejemplo, la ivermectina tiene como propósito principal ser un desparasitante sistémico, que podría

comprometer la función hepática a dosis elevadas o en frecuentes repeticiones (Heidary & Gharebaghi, 2020). El acetaminofén a pesar de ser seguro en dosis recomendadas puede provocar un efecto hepatotóxico a largo plazo, incluso por su toxicidad aguda en dosis extremas es un fármaco utilizado por personas para intento de suicidio (Lee, 2007). La azitromicina, al igual que otros macrólidos puede generar problemas de resistencia antimicrobiana por subdosificación (Gomes et al., 2019). No está demás aludir que, los medicamentos descritos anteriormente (ivermectina, acetaminofén y azitromicina) son accesibles para el público en general en todo el territorio de Guatemala.

Además de los aproximados 1,150,000 casos reportados con SARS-CoV-2 y de los 20,000 fallecidos en Guatemala (Blanco, 2022), existe una incompreensión acerca de otros riesgos asociados a la pandemia. Por ejemplo, una encuesta sobre seguridad alimentaria y nutrición con 1,242 hogares de Quiché, Huehuetenango y San Marcos reveló que los hogares con ingresos más elevados redujeron su diversidad dietética en mayor medida que lo hogares con ingresos más bajos como una consecuencia del confinamiento (Ceballos et al., 2020). Una evaluación de la prevalencia de trastornos mentales en 1522 trabajadores de la salud sugiere un 59.1% de tamizaje positivo a malestar psicológico y 23% para síntomas de depresión (Paniagua-Ávila et al., 2022). Otro estudio retrospectivo acerca de la mortalidad por Covid-19 en Guatemala, reportó un declive del 26% al inicio de la pandemia en marzo 2020 y un pico del 73% en julio de ese año, sugiriendo una subestimación de esta crisis (Martínez-Folgar et al., 2021). Incluso, se estima que durante esta crisis sanitaria la mortalidad por infecciones oportunistas por VIH se incrementó en 10.7% y las pruebas de monitoreo se redujeron en un 54.7% (Medina et al., 2021). Estos estudios aluden la necesidad de indagar otros impactos sanitarios como el problema abordado en la presente investigación acerca de las posibles consecuencias de las automedicaciones. En este sentido, la Organización Mundial de la Salud (WHO por sus siglas en inglés) sugiere la búsqueda de resultados provenientes de ensayos clínicos para establecer la seguridad, eficacia, riesgos y beneficios de los medicamentos usados durante la pandemia (WHO, 2020). Por consiguiente, el objetivo del presente estudio es evaluar los posibles efectos tóxicos de tres fármacos de venta libre (ivermectina, azitromicina y acetaminofén) sobre la salud de un modelo animal estandarizado (ratones *Mus musculus* CD1) valorando los parámetros clínicos, hematológicos e histopatológicos. Lo anterior, como una

aproximación *in vivo* de las consecuencias de estas automedicaciones en Guatemala.

Este experimento sigue las directrices de la Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) Guidelines for the Testing of Chemicals para pruebas de toxicidad a dosis repetidas durante 28 días por vía oral en roedores (OECD 407 Guideline, 2008). Cabe mencionar que la sensibilidad de este ensayo OECD 407 no es suficiente para identificar todas las sustancias con distintos modos de acción (por ejemplo, efectos anti androgénicos o anti estrogénicos), esperando efectos clínicos y en menor posibilidad consecuencias hematológicas e histológicas. Lo anterior implica el seguimiento clínico de cada uno de los individuos, identificando síntomas de enfermedad, estudiando el perfil hematológico e histopatológico de los ratones sometidos a los tratamientos propuestos para compilar evidencia que sugiera alguna consecuencia del uso de los medicamentos en los diferentes grupos experimentales (Atli et al., 2015; Bergenstock et al., 2005; Lankas et al., 1989; O'Brien et al., 2000; O'Reilly et al., 1992; Trailović & Nedeljković, 2011).

Materiales y Métodos

Ubicación geográfica y temporalidad de la investigación/Obtención de información

El experimento se realizó durante el 2021 (28 días continuos posiblemente del mes de abril) en el Bioterio "Amarillis Saravia Gómez" de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, ubicado en el área de la Granja Experimental de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, campus universitario Usac, Zona 12 de la ciudad de Guatemala.

Diseño experimental

Una cantidad de 21 ratones CD1 maduros más no seniles, sanos, de 7 semanas de edad y con un peso promedio de 26.5 gramos fueron mantenidos bajo condiciones estándar del Bioterio de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia Usac (temperatura y humedad ambiente de la ciudad de Guatemala y un ciclo de luz de 12 horas). Según la directriz 407 OECD se deben incluir ambos sexos biológicos dentro de todos grupos de evaluación de fármacos para un periodo de 28

días en un diseño completamente al azar (en este caso por disponibilidad del bioterio se usaron 9 hembras y 11 machos). Los individuos tuvieron acceso libre a la misma dieta (Rambocan®) y agua *ad libitum*. Las condiciones de manejo e higiene fueron las mismas para todos los ratones durante el experimento. Las hembras fueron nulíparas y no estaban preñadas. Dentro de cada grupo las hembras estuvieron separadas de los machos para evitar cortejo y coito. Se mantuvieron seis días en ambientación de las cajas plásticas rectangulares, en observación veterinaria y pesaje previo al experimento. Una de las hembras mostró decaimiento y debilidad, por lo que fue sustituida por otra hembra de similar peso. La dosificación de los tratamientos se inició al séptimo día de su permanencia en el bioterio, antes de que los animales tuvieran las nueve semanas de edad (Kunimatsu et al., 2004).

La conformación de los tratamientos fue la siguiente: un grupo control con tres hembras y cuatro machos; un primer tratamiento con dosis recomendada

de los medicamentos en tres hembras y cuatro machos; y un segundo tratamiento con sobredosis para tres hembras y cuatro machos. La colocación de los ratones por sexo fue de manera aleatorio dentro de los grupos con un código único por individuo. La dosificación diaria de los tratamientos fue la siguiente: El grupo control consistió en agua potable sin fármacos; el primer tratamiento consistió en [ivermectina 250 µg/kg] + [azitromicina 20 mg/kg] + [acetaminofén 1 mg/ml]; y el segundo tratamiento consistió en [ivermectina 1200 µg/kg] + [azitromicina 40 mg/kg] + [acetaminofén 2 mg/ml] (ver Tabla 1 para ver ingredientes y excipientes por fármaco). Diariamente se administraron las soluciones correspondientes al tratamiento vía oral, utilizando una sonda rígida de alimentación posicionada en estómago asegurando la dosis (además así el grupo control fue sometido al mismo manejo físico). En todos los casos el volumen de fármaco administrado no sobrepasó los 0.5 ml/50 g de peso corporal (Higashihara et al., 2007).

Tabla 1

Media aritmética y desviación estándar de peso, hematología y bioquímica de ratones CDI sometidos a una prueba OECD 407 de dos tratamientos con fármacos de venta libre en la crisis del Covid-19 en Guatemala

	Control	Tratamiento Dosis	Tratamiento Sobredosis
Peso (g)	28.02 (3.44)	28.27 (4.34)	26.60 (3.19)
Hematocrito (vol %)	40.42 (1.71)	38.71 (3.03)	33.00 (3.87)
Hemoglobina (g/dL)	13.41 (0.67)	12.80 (0.97)	10.90 (1.38)
Glóbulos blancos (miles/mm ³)	4,121.42 (479.45)	5,878.57 (348.63)	3,150 (1,545.42)
Glóbulos rojos (millones/mm ³)	7.43 (0.67)	6.39 (0.50)	5.50 (0.99)
Neutrófilos (mm ³)	19.85 (6.49)	11.71 (2.42)	16.00 (10.70)
Monocitos (mm)	8.57 (6.45)	6.14 (1.95)	10.57 (5.71)
Basófilos (mm ³)	0 (0)	0.14 (0)	0 (0)
Linfocitos (mm ³)	70.14 (10.65)	80.28 (2.87)	70.85 (10.25)
Eosinófilos (mm ³)	1.42 (1.27)	1.71 (2.21)	2.57 (1.61)
Nitrógeno de urea en sangre (mg/dL)	19.66 (2.24)	21.84 (4.37)	19.76 (2.61)
Creatinina (mg/dL)	0.50 (0.00)	0.50 (0.00)	0.50 (0.00)
Urea (mg/dL)	44.85 (5.13)	49.82 (9.98)	45.00 (5.96)
Glucosa (g/dL)	150.04 (94.83)	153.75 (56.40)	166.71 (27.89)
Transaminasa glutámico-pirúvica (U/L)	151.20 (155.29)	244.57 (315.47)	254.84 (227.09)
Proteína total (%)	5.10 (0.47)	4.50 (0.41)	4.70 (0.45)

Técnicas e instrumentos

Las mediciones clínicas fueron realizadas entre las 7:00 y 9:00 horas por 12 estudiantes de veterinaria previamente entrenados. El peso diario de los ratones se registró con una balanza electrónica en gramos sin decimales. Así también se estimó el consumo de agua con bebederos plásticos de 100 mL y el consumo de alimento por grupo pesando el sobrante en gramos (para identificar posibles cambios de consumo). Además, bajo la supervisión de un médico veterinario se evaluó diariamente a los ratones en búsqueda de signos de enfermedad (diarrea, vómitos, decaimiento, taquipnea, secreciones anormales), estereotipias (exceso de acicalamiento o paseos repetitivos) y comportamientos aberrantes (agresión, canibalismo, automutilación) (OECD, 2008). Además, suponiendo una posible intoxicación debido a las dosis repetidas de medicamentos se evaluaron cambios en la marcha y en la postura, respuesta a la manipulación, así como presencia de movimientos tónico-clónicos en los ratones.

En la mañana del día 29 se practicó la eutanasia a todos los ratones, administrando vía intraperitoneal una combinación de 5 mg/kg de xilacina y 15 mg/kg de ketamina. Por medio de punción cardiaca se colectó 0.5 ml de sangre para estimar por análisis hematológicos los conteos de hematocrito (vol %), hemoglobina (g/dL), glóbulos blancos (miles/mm³), glóbulos rojos (millones/mm³), neutrófilos (mm³), monocitos (mm³), basófilos (mm³), linfocitos (mm³) y eosinófilos (mm³). Además, se colectó 0.5 ml de sangre para la obtención de suero y medición sanguínea de nitrógeno de urea (mg/dL), creatinina (mg/dL), urea (mg/dL), glucosa (g/dL), transaminasa glutámico-pirúvica (U/L) y proteína total (%) en el Laboratorio Clínico del Hospital de Animales de Compañía de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Usac. Se practicó la necropsia para valorar cambios visuales en cerebro, cavidad oral, vías respiratorias superiores e inferiores, ojos, piel y órganos internos torácicos y abdominales. Se colectaron biopsias (preservadas en formalina amortiguada al 10%) de corazón, tráquea, pulmón, estómago, intestino, hígado, bazo y riñón para análisis histológico en el Laboratorio de Histopatología FMVZ Usac.

Procesamiento y análisis de información

Se registraron los datos, ordenados por individuo dentro de cada uno de los grupos. Se exploraron gráficamente todos los datos individuales por ratón en

búsqueda de valores aberrantes y sobredispersos. Se aplicaron análisis descriptivos de medidas de tendencia central y dispersión. Se examinó el supuesto de normalidad de los datos con la Prueba de Shapiro-Wilk y la homocedasticidad con la Prueba de Bartlett. Las diferencias de datos normales entre grupos fueron evaluadas a través del análisis de varianza de un factor, identificando las diferencias análisis *post-hoc* utilizando la prueba de Tukey. Los datos que carecieron de normalidad fueron analizados a través de la prueba de Kruskal-Wallis, identificando las diferencias con el análisis *post-hoc* utilizando la prueba de Dunn con corrección de Bonferroni. El nivel de significancia empleado es de $p < .05$. Las lesiones macroscópicas y microscópicas del análisis histopatológico se describieron según su frecuencia en los tratamientos. Además, se exploró en tablas de contingencia con residuales de Pearson la posible interacción categórica de las lesiones descritas entre grupos experimentales. Para el análisis de datos se utilizó el paquete ggplot2 (Wickham, 2016) y los paquetes básicos incluidos del programa R versión 4.2.0 (R Core Team, 2017).

El presente experimento cuenta con el aval del Comité Institucional para el Cuidado de los Animales de Laboratorio (CICUAL) de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia Usac y del Comité de Bioética de Postgrado de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Usac, Registro UBA-CE-002-2019.

Resultados

Todos los individuos ($n = 21$) carecieron de síntomas clínicos o muerte súbita, consumiendo agua y alimento con regularidad durante los 28 días del experimento. Un ratón macho del grupo control presentó criptorquidismo. La prueba de Shapiro-Wilk mostró ausencia de normalidad en los datos de peso $W(20) = 0.94$, $p < .001$; monocitos $W(20) = 0.91$, $p < .001$; y transaminasa glutámico-pirúvica $W(20) = 0.75$, $p < .001$. En tanto que sí cumplieron con el supuesto de normalidad los datos de hematocrito, $W(20) = 0.5$, $p = .39$; hemoglobina, $W(20) = 0.89$, $p = .07$; glóbulos blancos, $W(20) = 0.91$, $p = .07$; glóbulos rojos, $W(20) = 0.97$, $p = .87$; los neutrófilos, $W(20) = 0.92$, $p = .09$; los basófilos, $W(20) = 0.80$, $p = .60$; eosinófilos, $W(20) = 0.89$, $p = .09$; nitrógeno de urea, $W(20) = 0.96$, $p = .55$; urea, $W(20) = 0.96$, $p = .55$; glucosa, $W(20) = 0.95$, $p = .50$, y proteína total, $W(20) = 0.4$, $p = .23$. Con relación a la creatinina, todos los individuos obtuvieron un valor de 0.5 mg/dL imposibilitando a la

prueba calcular valores W y p por ausencia de variación. La media aritmética y desviación estándar de los parámetros de salud por tratamiento se presentan en la Tabla 1.

Se encontraron diferencias significativas entre los grupos experimentales en el peso, $H(2) = 20.21, p < .001$; hematocrito, $F(2, 18) = 3.23, p < .063$; hemoglobina, $F(2, 18) = 10.85, p < .001$; glóbulos blancos, $F(2, 18) = 14.66, p < .001$; linfocitos, $F(2, 18) = 3.15, p < .068$; glóbulos rojos, $F(2, 18) = 11.60, p < .001$; nitrógeno de urea en sangre, $F(2, 18) = 6.03, p < .05$; urea $F(2, 18) = 6.09, p < .05$, y proteína total, $F(2, 18) = 3.23, p = .06$. A nivel gráfico se observa una tendencia negativa en el grupo dosis y sobredosis de estos parámetros (Figura 1). Por otra parte, los neutrófilos, los monocitos, los basófilos, los eosinófilos, la creatinina y la glucosa carecieron de diferencias estadísticas entre grupos ($p > .05$). Las lesiones macroscópicas relevantes en los individuos experimentales ($n = 21$, Figura 2), fueron hígado friable ($n = 2$) y bordes pálidos del hígado ($n = 4$) en el tratamiento de sobredosis. Las lesiones microscópicas distinguidas (Figura 3) fueron la degeneración hidrópica del hígado ($n = 11$), descamación epitelial en intestino ($n = 8$), hialinización en riñón ($n = 7$) y tumefacción turbia en hígado ($n = 5$). La exploración de las lesiones macroscópicas y microscópicas en tablas de contingencia respecto a los tratamientos careció de significancia estadística ($p > .05$).

Discusión

La aplicación de dosis repetidas de tres fármacos de venta libre en Guatemala (ivermectina, azitromicina, acetaminofén) causó efectos adversos en la salud de los individuos experimentales. A diferencia del grupo control, los ratones del tratamiento dosis y sobredosis mostraron lesiones histopatológicas en riñón e hígado. Aunque el hígado tiene la capacidad de regenerarse y recuperar sus funciones, se carece de dicho mecanismo fisiológico en los riñones (Reimschuessel, 2001). Además, el tratamiento de sobredosis disminuyó significativamente el peso, el hematocrito, la hemoglobina, los glóbulos blancos, los linfocitos, los glóbulos rojos, el nitrógeno de urea en sangre y la urea de los ratones. La proteína total presentó un comportamiento inverso, observándose un incremento significativo para el tratamiento de sobredosis. Estos hallazgos son alarmantes derivados de un experimento usando un modelo animal, considerando el supuesto que los guatemaltecos se auto recetan a dosis desconocidas en el

curso de la pandemia de Covid-19. Por consiguiente, para las condiciones culturales, sociales y económicas del país centroamericano, se conjetura un deterioro latente debido a la automedicación repetida de estos medicamentos como una medida desesperada ante los casos de Covid-19 (MSPAS, 2020).

Lo anterior debe ser considerado con cautela, a la ausencia de datos gubernamentales en Guatemala acerca de la incidencia de casos con efectos adversos de automedicación durante el curso de la pandemia (Meneses-Navarro et al., 2020). En otras palabras, es necesario la compilación de datos epidemiológicos certeros para refutar la hipótesis del daño en la salud de los guatemaltecos que se automedicaron con dosis repetidas de ivermectina, azitromicina, acetaminofén (además de otros medicamentos de venta libre omitidos en este estudio). Por ejemplo, la Base de Datos de Farmacovigilancia Francesa (FPVD, por sus siglas en inglés) reportó 113 casos en 2019 y 114 en 2020 de efectos adversos por automedicación derivados de la pandemia, de los cuales la mitad de estos presentaron un curso severo (Gras et al., 2021). Por otra parte, en Dacca, Bangladesh, se reportó en 2020 una prevalencia de automedicación de 88.33% de una muestra de 626 personas (Nasir et al., 2020). Es necesario realizar encuestas locales para estimar la frecuencia de la automedicación por la pandemia, de la cual podría estimarse una muestra para monitorear el funcionamiento renal y hepático, consolidando una serie de casos o constatando la ausencia sanitaria. Sin embargo, es imperante señalar que este aparente deterioro de la salud en Guatemala estaría exento para los pacientes que fueron correctamente dosificados por instrucción médica ante la confirmación del cuadro SARS-CoV-2 (Drożdżal et al., 2020).

Experimentalmente se puede atribuir la pérdida de peso del grupo dosis ($P < .05$) y sobredosis ($P < .001$) a las dosis administradas durante un periodo de 28 días. El grupo control (que careció de la pérdida de peso) fue sometido a la administración de agua potable por sonda por parte de los mismos operarios. En tal caso, un daño físico por abrasión de la mucosa gástrica por la sonda está descartado como una explicación en la pérdida de peso del tratamiento sobredosis. En cambio, se ha reportado que la ivermectina a dosis mayores de 0.4 mg/kg traspasa la barrera hematoencefálica provocando una pérdida de peso en ratones neonatos (Lankas et al., 1989). La ivermectina causa neurotoxicidad debido a sus propiedades GABAérgicas centrales y periféricas del sistema colinérgico, aumentando el tono y la amplitud de contracción del ileon en

Figura 1

Gráficas de caja para el peso, hematología y bioquímicas de ratones CD1 sometidos a una prueba OECD 407 de dos tratamientos con fármacos de venta libre en la crisis del Covid -19 en Guatemala

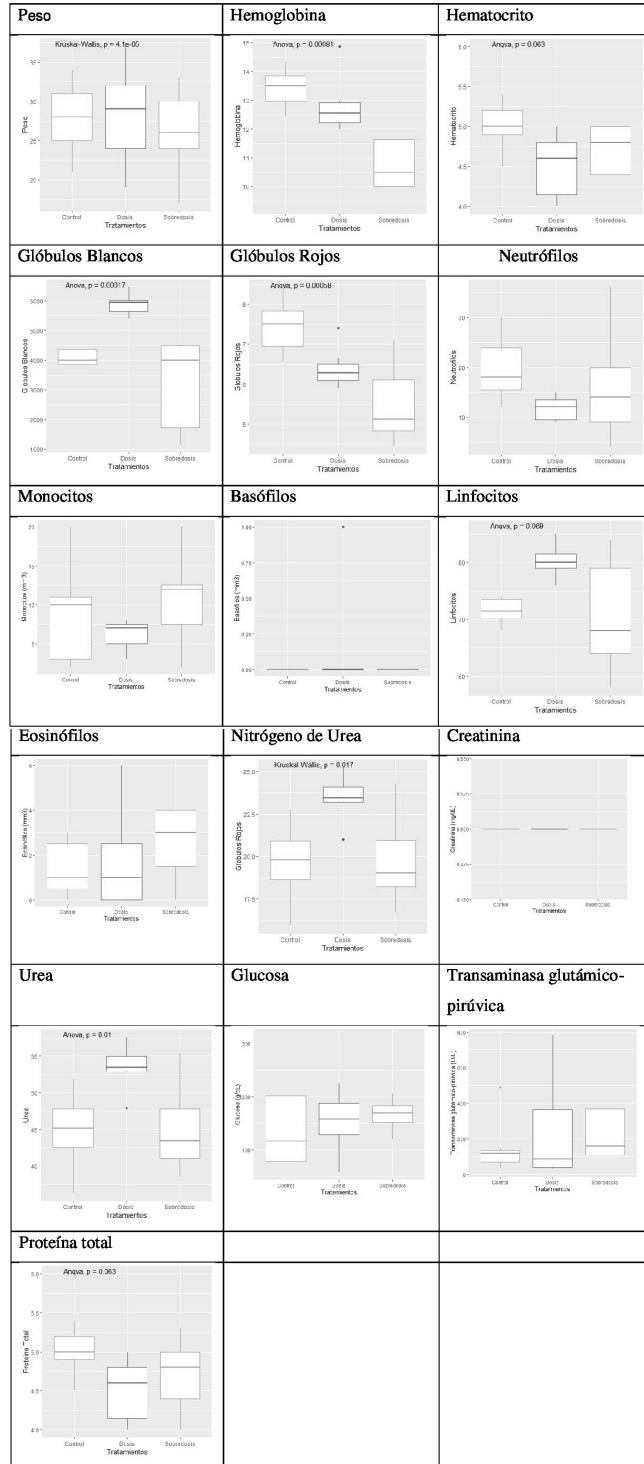
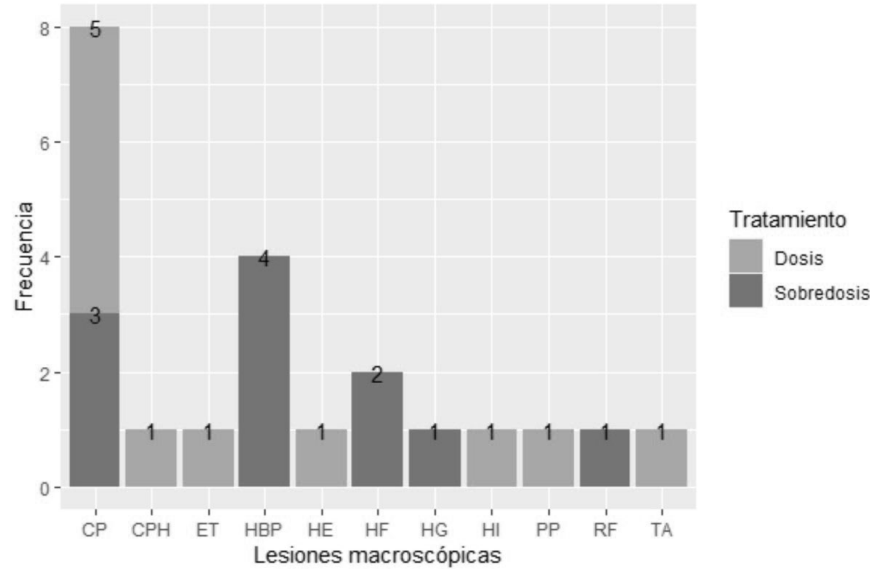


Figura 2

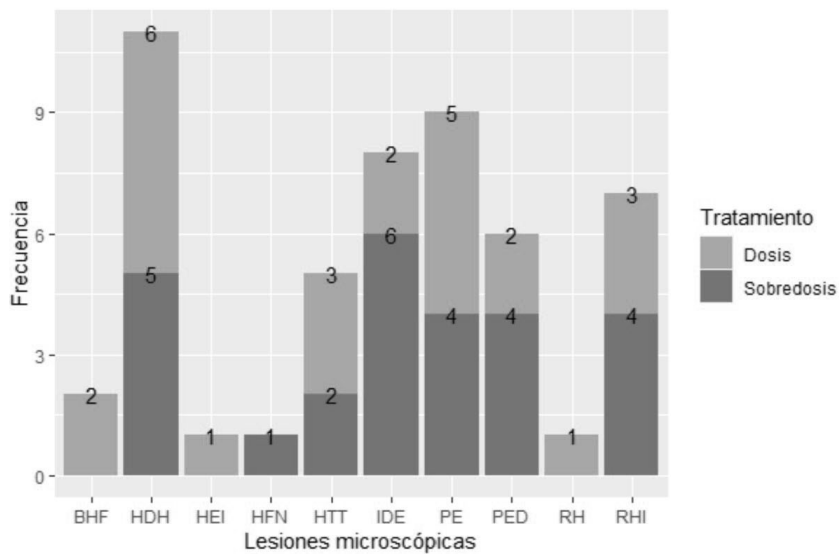
Frecuencia de lesiones macroscópicas en ratones CDI sometidos a una prueba OECD 407 de dos tratamientos con fármacos de venta libre en la crisis del Covid-19 en Guatemala



Nota. (CP: congestión pulmonar, CPH: coloración pálida en hígado, ET: edema en tráquea, HBP: bordes pálidos en hígado, HE: hemorragia en estómago, HF: hígado friable, HG: hígado graso, HI: hemorragia en intestino, PP: petequias en pulmón, RF: riñón friable, TA: timo agrandado).

Figura 3

Frecuencia de lesiones microscópicas en ratones CDI sometidos a una prueba OECD 407 de dos tratamientos con fármacos de venta libre en la crisis del Covid-19 en Guatemala



Nota. (BHF: hiperplasia de folículos linfoides en bazo, HDH: degeneración hidrópica del hígado, HEI: edema intersticial del hígado, HFN: focos necróticos en hígado, HTT: tumefacción turbia en hígado, IDE: descamación epitelial en intestino, PE: enfisema pulmonar, PED: edema pulmonar, RH: hemorragia en riñón y RHI: hialinización en riñón).

el intestino delgado (Trailović & Nedeljković, 2011). Por consiguiente, la administración deliberada de ivermectina se puede asociar teóricamente a la pérdida de peso en los ratones del presente experimento debido a que la función de absorción de nutrientes del intestino delgado se alteraría.

De igual forma, la hemoglobina, el hematocrito y los glóbulos rojos decrecieron significativamente en el grupo dosis ($P < .05$) y sobredosis ($P < .001$). Se ha reportado que el acetaminofén a dosis de 750 mg/kg causa daño hepático en ratones, resultando en la acumulación de células rojas dentro del hígado (Walker et al., 1985). En el presente experimento esta dosis tendría que ser equivalente a 9 mg por individuo, considerando los 26.5 gramos de peso promedio. Sin embargo, con la dosis de 1 mg y sobredosis de 2 mg se evidenció el efecto adverso acumulativo. La molécula del acetaminofén provoca una congestión centrolobulillar masiva en los hepatocitos y colapso de los lúmenes sinusoidales, atrapando a los glóbulos rojos lo que representa un estado de anemia para el individuo (Pang et al., 1995).

En otro estudio que abordó la existencia de una respuesta adaptativa del hígado de ratas a diferentes dosis repetidas con acetaminofén (800, 1200 y 1600 mg/kg), reportó el decremento de los conteos de glóbulos blancos, eosinófilos, monocitos y linfocitos (O'Brien et al., 2000). No obstante, en el presente experimento únicamente observamos esta disminución en el conteo de glóbulos blancos respectivamente en el grupo dosis ($P < .05$) y sobredosis ($P < .001$). Es posible que estos efectos en las células de defensa no fueran tan evidentes en nuestro experimento debido a las dos únicas dosis empleadas. El acetaminofén está implicado en la inhibición de la síntesis de ADN, desequilibrando la estructura de ácidos nucleicos, provocando aberraciones cromosómicas en médula ósea de ratas lo que alteraría la formación de las células de defensa (Lister & McLean, 1997).

De las bioquímicas sanguíneas evaluadas se observaron incrementos del nitrógeno de urea en sangre del grupo dosis e igualdad en los valores de la transaminasa glutámico-pirúvica. Se ha reportado que la azitromicina a dosis de 5.6 mg/kg puede incrementar la urea en sangre de ratas (Tunde & Ore, 2014). No obstante, aunque podría argumentarse el aumento de la urea por la inducción de metabolitos renales como un estímulo de la azitromicina en los glomérulos renales (Traynor et al., 2006), los resultados del grupo sobredosis carecieron de dicho efecto (Figura 1). En

otros estudios con antibióticos macrólidos (familia a la que pertenece la azitromicina) se asocia el fallo renal al efecto de la molécula química en estados de deshidratación de ratas (Kobuchi et al., 2020). De igual manera, la transaminasa glutámico-pirúvica careció de diferencias significativas en las comparaciones entre grupos como sugestiva de una lesión hepatocelular. Es necesario reconocer que el presente estudio omite otras pruebas renales (SDMA) y hepáticas (AST, ALP y GGT) que podrían ser más sensibles respecto al hallazgo bioquímico esperado.

En el caso de la proteína total en sangre se observó un leve decremento en ambos grupos ($P = 0.06$). Lo anterior puede vincularse a la pérdida de peso de los individuos durante el experimento por efecto de la ivermectina (Leidy et al., 2015). Además, en el estudio de Tunde y Ore (2014) se informa sobre el hallazgo histopatológico de la pérdida de proteína en el lumen tubular del riñón de las ratas como una consecuencia de dosis elevadas de Azitromicina.

Aunque las bioquímicas sanguíneas evaluadas fueron poco sensibles para estimar un deterioro en la salud de los ratones, el estudio patológico sugiere efectos adversos a nivel histológico. A nivel macroscópico las lesiones congruentes fueron hígado friable y bordes pálidos del hígado. Esto hace referencia a la facilidad del tejido hepático a desmenuzarse con el tacto manual en comparación a un tejido de consistencia normal debido a un proceso de muerte celular (Stockham & Scott, 2008). A nivel microscópico las lesiones frecuentes fueron degeneración hidrópica del hígado, descamación epitelial en intestino, hialinización en riñón y tumefacción turbia en hígado. Estas consecuencias histológicas sugieren que los hepatocitos fueron incapaces de conservar la homeostasis de iones y líquido, acumulando vacuolas de agua, con pérdida de la primera capa epitelial del intestino, dificultado la absorción de nutrientes y el engrosamiento del tejido renal por la acumulación de restos celulares y proteínas plasmáticas (Stockham & Scott, 2008).

Un experimento que evaluó el efecto toxicológico de la doble de la dosis recomendada de ivermectina en ratones (0.4 mg/kg) reportó entre las consecuencias patológicas los bordes pálidos en hígado y la degeneración hidrópica de los hepatocitos (Elzoghby et al., 2015). No obstante, Elzoghby y colaboradores (2015) reportaron otro tipo de consecuencias renales que difieren con nuestros datos, como la descamación y la destrucción de túbulos renales, la vacuolización glomerular e infiltra-

ción leucocitaria del epitelio renal. Además, se asume que estas consecuencias son dosis dependientes debido a los reportes de seguridad de las dosis recomendadas de ivermectina ($< .2$ mg/kg) con ausencia de anomalías histológicas en hígado y riñón (Dong et al., 2020).

En el caso de la azitromicina, Tunde y Ore (2014) reportaron congestión sinusal y portal en el hígado, acompañada de la infiltración de células mononucleares en hepatocitos, difiriendo de nuestros hallazgos. Empero, Tunde y Ore (2014) coinciden con nuestros datos al informar sobre la acumulación de restos celulares y proteínas plasmáticas en el lumen tubular del riñón (además reportan congestión y hemorragia cortical). Se ha propuesto que la azitromicina exacerba el estrés oxidativo de los órganos relevantes para la farmacodinamia de los macrólidos, desencadenando estos procesos de muerte celular reportados en estudios de toxicidad (De Diego et al., 2013).

En cuanto al acetaminofén, O'Brien y colaboradores (2000) informaron una necrosis y una moderada fibrosis hepática, acompañada de un incremento de células mitóticas con basófila de los hepatocitos. Sin embargo, en dicho estudio aplicaron dosis de 800, 1200 y 1600 mg/kg en ratas, mientras que en el presente experimento se aplicó una dosis de 1-2 mg. Además, es necesario recordar que se ha propuesto un efecto parcial de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa hepática y de la actividad de la glutatión reductasa como mecanismos regenerativos de dicho órgano (Cramer et al., 1995).

Los resultados del presente experimento con medicamentos de venta libre en Guatemala son una advertencia ante el fenómeno de la automedicación, especialmente durante la pandemia de Covid-19. Además, la escasa evidencia preventiva de fármacos como la ivermectina por medio de ensayos clínicos y metaanálisis hacen de su uso una acción cautelosa y reservada para el cuadro de SARS-CoV-2 por parte de instituciones como el Colegio Americano de Toxicidad Médica (Calello et al., 2022). De igual forma, desde el punto de vista ético (Shojaei & Salari, 2020) se necesitan estrictas regulaciones para la venta libre de medicamentos. Esto hace necesario ampliar los vacíos de información sobre las automedicaciones en Guatemala durante la pandemia de Covid-19 y otras enfermedades endémicas (por ejemplo, dengue, leishmaniosis y malaria). En este sentido, la OMS considera que la venta libre debería ser respaldada según los datos disponibles en cada región y en cada país (WHO, 2020).

Agradecimientos

Agradecemos a Ligia Ríos de la Escuela de Estudios de Postgrado de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala por la gestión administrativa para el financiamiento de la investigación. Agradecemos también a Diego Fortuny, del Programa de Maestría en Ciencia Animal de la Escuela de Estudios de Posgrado de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Contribución de los autores

Coordinación, elaboración y revisión del Documento: DV, JJC, ML-L

Diseño de la recolección de datos o del trabajo en campo: ML-L, CG, RC

Recolección o contribución de datos o realización del trabajo de campo: GA, BQ, RV, JS, LG, RL, RL-E, SCC, RT, SS, LV, CG, RC

Limpieza, sistematización, análisis o visualización de datos: ML-L

Participación en análisis de datos, estructura y en la escritura del documento: GA, BQ, RV, JS, LG, RL, RL-E, SCC, RT, SS, LV

Materiales suplementarios

Este artículo no tiene archivos complementarios.

Referencias

- Atli, O., Ilgin, S., Altuntas, H., & Burukoglu, D. (2015). Evaluation of azithromycin induced cardiotoxicity in rats. *International journal of clinical and experimental medicine*, 8(3), 3681. PMID: 26064263; PMCID: PMC4443097.
- Belayneh, A. (2020). Off-Label Use of Chloroquine and Hydroxychloroquine for COVID-19 Treatment in Africa Against WHO Recommendation. *Research and Reports in Tropical Medicine*, (11), 61-72. <https://doi.org/10.2147/rrtm.s269936>
- Bergenstock, M., Min, W., Simon, A. M., Sabatino, C., & O'Connor, J. P. (2005). A comparison between

- the effects of acetaminophen and celecoxib on bone fracture healing in rats. *Journal of orthopaedic trauma*, 19(10), 717-723. DOI: 10.1097/01.bot.0000184144.98071.5d
- Blanco, E. (30 de diciembre 2022). Guatemala alcanza los 20 mil fallecidos por COVID-19. *La Hora*. Disponible en: <https://lahora.gt/nacionales/engelberth-blanco/2022/12/30/guatemala-alcanza-los-20-mil-fallecidos-por-covid-19/>
- Bowser, D. M., & Mahal, A. (2011). Guatemala: the economic burden of illness and health system implications. *Health policy*, 100(2-3), 159-166. <https://doi.org/10.1016/j.healthpol.2010.11.011>
- Calello, D. P., Kazzi, Z., & Stolbach, A. (2022). American College of Medical Toxicology (ACMT) Cautions Against Off-Label Prescribing of Ivermectin for the Prevention or Treatment of COVID-19. *Journal of Medical Toxicology*, 18(1), 69-70. <https://doi.org/10.1007/s13181-021-00866-z>
- Caly, L., Druce, J. D., Catton, M. G., Jans, D. A., & Wagstaff, K. M. (2020). The FDA-approved drug ivermectin inhibits the replication of SARS-CoV-2 in vitro. *Antiviral Research*, 178, Artículo 104787. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2020.104787>
- Ceballos, F., Hernandez, M., & Paz, C. (2020). Short-term impacts of COVID-19 on food security and nutrition in rural Guatemala: Phone-based farm household survey evidence. *Agricultural Economics*, 52(3), 477-494. <https://doi.org/10.1111/agec.12629>
- Cramer, C. T., Cooke, S., Ginsberg, L. C., Kletzien, R. F., Stapleton, S. R., & Ulrich, R. G. (1995). Upregulation of glucose-6-phosphate dehydrogenase in response to hepatocellular oxidative stress: Studies with diquat. *Journal of Biochemical Toxicology*, 10(6), 293-298. <https://doi.org/10.1002/jbt.2570100603>
- De Diego, A., Milara, J., Martínez-Moragón, E., Palop, M., León, M., & Cortijo, J. (2013). Effects of long-term azithromycin therapy on airway oxidative stress markers in non-cystic fibrosis bronchiectasis. *Respirology*, 18(7), 1056-1062. <https://doi.org/10.1111/resp.12130>
- Dong, Z., Xing, S.-Y., Zhang, J.-Y., & Zhou, X.-Z. (2020). 14-Day Repeated Intraperitoneal Toxicity Test of Ivermectin Microemulsion Injection in Wistar Rats. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, Artículo 598313. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.598313>
- Drozdzał, S., Rosik, J., Lechowicz, K., Machaj, F., Kotfis, K., Ghavami, S., & Łos, M. J. (2020). FDA approved drugs with pharmacotherapeutic potential for SARS-CoV-2 (COVID-19) therapy. *Drug Resistance Updates*, 53, Artículo 100719. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2020.100719>
- Elzoghby, R., Amin, A., Hamouda, A., & Fatah, A. (2015). Toxicological and pathological studies of Ivermectin on male albino rats. *Journal of American Science*, 11(3), 73-83. <https://doi.org/10.1377/hlthaff.2013.0625>
- Gérard, A., Romani, S., Fresse, A., Viard, D., Parassol, N., Granvullemin, A., ... & Drici, M. D. (2020). "Off-label" use of hydroxychloroquine, azithromycin, lopinavir-ritonavir and chloroquine in COVID-19: a survey of cardiac adverse drug reactions by the French Network of Pharmacovigilance Centers. *Therapies*, 75(4), 371-379. <https://doi.org/10.1016/j.therap.2020.05.002>
- Gomes, C., Ruiz-Roldán, L., Mateu, J., Ochoa, T. J., & Ruiz, J. (2019). Azithromycin resistance levels and mechanisms in *Escherichia coli*. *Scientific reports*, 9(1), 6089. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42423-3>
- Gras, M., Gras-Champel, V., Moragny, J., Delaunay, P., Laugier, D., Masmoudi, K., & Liabeuf, S. (2021). Impact of the COVID-19 outbreak on the reporting of adverse drug reactions associated with self-medication. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 79(5), 522-529. <https://doi.org/10.1016/j.pharma.2021.02.003>
- Heidary, F., & Gharebaghi, R. (2020). Ivermectin: a systematic review from antiviral effects to COVID-19 complementary regimen. *The Journal of antibiotics*, 73(9), 593-602. <https://doi.org/10.1038/s41429-020-0336-z>
- Higashihara, N., Shiraishi, K., Miyata, K., Oshima, Y., Minobe, Y., & Yamasaki, K. (2007). Subacute oral toxicity study of bisphenol F based on the draft protocol for the "Enhanced OECD Test Guideline no. 407". *Archives of toxicology*, 81, 825-832. <https://doi.org/10.1007/s00204-007-0223-4>
- Intituto Nacional de Estadística. (2019). *Principales Resultados del Censo 2018 en Guatemala*.

- <https://www.isdmguatemala.org/wp-content/uploads/2019/09/Resultados-Censo-Septiembre-2019.pdf>
- Jaiswal, J., LoSchiavo, C., & Perlman, D. C. (2020). Disinformation, Misinformation and Inequality-Driven Mistrust in the Time of COVID-19: Lessons Unlearned from AIDS Denialism. *AIDS and Behavior*, 24(10), 2776-2780. <https://doi.org/10.1007/s10461-020-02925-y>
- Kobuchi, S., Fujita, A., Kato, A., Kobayashi, H., Ito, Y., & Sakaeda, T. (2020). Pharmacokinetics and lung distribution of macrolide antibiotics in sepsis model rats. *Xenobiotica*, 50(5), 552-558. <https://doi.org/10.1080/00498254.2019.1654633>
- Kunimatsu, T., Yamada, T., Miyata, K., Yabushita, S., Seki, T., Okuno, Y., & Matsuo, M. (2004). Evaluation for reliability and feasibility of the draft protocol for the enhanced rat 28-day subacute study (OECD Guideline 407) using androgen antagonist flutamide. *Toxicology*, 200(1), 77-89. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2004.03.007>
- Lankas, G. R., Minsker, D. H., & Robertson, R. T. (1989). Effects of ivermectin on reproduction and neonatal toxicity in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 27(8), 523-529. [https://doi.org/10.1016/0278-6915\(89\)90048-3](https://doi.org/10.1016/0278-6915(89)90048-3)
- Leidy, H. J., Clifton, P. M., Astrup, A., Wycherley, T. P., Westertep-Plantenga, M. S., Luscombe-Marsh, N. D., Woods, S. C., & Mattes, R. D. (2015). The role of protein in weight loss and maintenance. *American Journal of Clinical Nutrition*, 101(6), 1320S-1329S. <https://doi.org/10.3945/ajcn.114.084038>
- Lister, C. F., & McLean, A. E. M. (1997). Inhibition of DNA synthesis by paracetamol in different tissues of the rat in vivo. *Toxicology*, 116(1-3), 49-57. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(96\)03521-4](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(96)03521-4)
- Martinez-Folgar, K., Alburez-Gutierrez, D., Paniagua-Avila, A., Ramirez-Zea, M., & Bilal, U. (2021). Excess Mortality during the COVID-19 Pandemic in Guatemala. *American Journal of Public Health*, 111(10), 1839-1846. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2021.306452>
- Medina, N., Alastruey-Izquierdo, A., Bonilla, O., Ortíz, B., Gamboa, O., Salazar, L. R., Mercado, D., Pérez, J. C., Denning, D. W., Arathoon, E., & Rodriguez-Tudela, J. L. (2021). Impact of the COVID-19 pandemic on HIV care in Guatemala. *International Journal of Infectious Diseases*, 108, 422-427. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2021.06.011>
- Meneses-Navarro, S., Freyermuth-Enciso, M. G., Pelcastre-Villafuerte, B. E., Campos-Navarro, R., Meléndez-Navarro, D. M., & Gómez-Flores-Ramos, L. (2020). The challenges facing indigenous communities in Latin America as they confront the COVID-19 pandemic. *International Journal for Equity in Health*, 19(1), Artículo 63. <https://doi.org/10.1186/s12939-020-01178-4>
- Miñan-Tapia, A., Conde-Escobar, A., Calderon-Arce, D., Cáceres-Olazo, D., Peña-Rios, A. J., & Carlos Donoso-Romero, R. (2020). *Factores asociados a la automedicación con fármacos relacionados a COVID-19 en estudiantes de ciencias de la salud de una ciudad peruana*. SciELO Preprints. <https://doi.org/10.1590/SciELOPreprints.1225>
- Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. (2020). Comunicación 3: Kit de medicamentos para COVID-19. https://medicamentos.mspas.gob.gt/phocadownload/Comunicados2020/KIT_DE_MEDICAMENTOS_PARA_COVID-1.pdf
- Nasir, M., Chowdhury, A. S. M. S., & Zahan, T. (2020). Self-medication during COVID-19 outbreak: A cross sectional online survey in Dhaka city. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*, 9(9), 1325-1330. <https://doi.org/10.18203/2319-2003.ijbcp20203522>
- Neupane, N. P., Das, A. K., Singh, A. K., & Verma, A. (2020). Off Label Medication to Combat COVID-19: Review Results to Date. *Coronaviruses*, 2(4), 496-506. <https://doi.org/10.2174/2666796701999200729145342>
- O'Brien, P. J., Slaughter, M. R., Swain, A., Birmingham, J. M., Greenhill, R. W., Elcock, F., & Bugelski, P. J. (2000). Repeated acetaminophen dosing in rats: Adaptation of hepatic antioxidant system. *Human and Experimental Toxicology*, 19(5), 277-283. <https://doi.org/10.1191/096032700678815918>
- O'Reilly, T., Kunz, S., Sande, E., Zak, O., Sande, M. A., & Täuber, M. G. (1992). Relationship between antibiotic concentration in bone and efficacy of

- treatment of staphylococcal osteomyelitis in rats: azithromycin compared with clindamycin and rifampin. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 36(12), 2693-2697. DOI: <https://doi.org/10.1128/aac.36.12.2693>
- Organization for Economic Co-operation and Development. (2008). Test No. 407:: Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents. OECD Guidelines for the testing of chemicals, Section 4. <https://doi.org/10.1787/9789264070684-en>.
- Pang, K. S., Barker, F., Simard, A., Schwab, A. J., & Goresky, C. A. (1995). Sulfation of acetaminophen by the perfused rat liver: The effect of red blood cell carriage. *Hepatology*, 22(1), 267-282. [https://doi.org/10.1016/0270-9139\(95\)90381-X](https://doi.org/10.1016/0270-9139(95)90381-X)
- Paniagua-Ávila, A., Ramírez, D. E., Barrera-Pérez, A., Calgua, E., Castro, C., Peralta-García, A., Mascayano, F., Susser, E., Alvarado, R., & Puac-Polanco, V. (2022). La salud mental de los trabajadores de salud en Guatemala durante la pandemia de COVID-19: resultados de base del estudio de cohortes HÉROES. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 46, Artículo e79. <https://doi.org/10.26633/rpsp.2022.79>
- Paumgartten, F. J. R., & de Oliveira, A. C. A. X. (2020). Off label, compassionate and irrational use of medicines in covid-19 pandemic, health consequences and ethical issues. *Ciencia e Saude Coletiva*, 25(9), 3413-3419. <https://doi.org/10.1590/1413-81232020259.16792020>
- Reimschuessel, R. (2001). A fish model of renal regeneration and development. *ILAR Journal*, 42(4), 285-291. <https://doi.org/10.1093/ilar.42.4.285>
- R Core Team. (2017). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing (Versión 4.2.0.) [Software]. <https://www.R-project.org/>
- Schiødt, F. V., Rochling, F. A., Casey, D. L., & Lee, W. M. (1997). Acetaminophen toxicity in an urban county hospital. *New England Journal of Medicine*, 337(16), 1112-1118. DOI: 10.1056/NEJM199710163371602
- Shojaei, A., & Salari, P. (2020). COVID-19 and off label use of drugs: An ethical viewpoint. *DARU, Journal of Pharmaceutical Sciences*, 28(2), 789-793. <https://doi.org/10.1007/s40199-020-00351-y>
- Stockham, S., & Scott, M. (2008). *Fundamentals of Veterinay Clinical Pathology* (2nd. ed.). Blackwell Publishing.
- Tejada, S. F., & Medina-Neira, D. (2020). La automedicación promovida por medios de comunicación, un peligro con consecuencias en tiempos de crisis de salud Pública por la COVID-19. *Revista Cubana de Informacion en Ciencias de la Salud*, 31(3), Artículo e1632. <http://scielo.sld.cu/pdf/ics/v31n3/2307-2113-ics-31-03-e1632.pdf>
- Trailović, S. M., & Nedeljković, J. T. (2011). Central and peripheral neurotoxic effects of ivermectin in rats. *Journal of Veterinary Medical Science*, 73(5), 591-599. <https://doi.org/10.1292/jvms.10-0424>
- Traynor, J., Mactier, R., Geddes, C. C., & Fox, J. G. (2006). How to measure renal function in clinical practice. *British Medical Journal*, 333(7571), 733-737. <https://doi.org/10.1136/bmj.38975.390370.7C>
- Tunde, E., & Ore, A. (2014). Influence of Azithromycin Treatment on Hepatic Lipid Peroxidation and Antioxidant Defence Systems of Rats. *British Journal of Pharmaceutical Research*, 4(2), 240-256. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0773.2000.pto870601.x>
- Waker, R., Racz, W., & Francis McElligott, T. (1985). Acetaminophen Induced Hepatotoxic Congestion in Mice. *Hepatology*, 5(2), 233-240.
- Wickham, H. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York, 2016. <https://ggplot2.tidyverse.org>
- World Health Organization. (2020). Off-label use of medicines for COVID-19. In World Health Organisation (Issue March, pp. 3-5). <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/off-label-use-of-medicines-for-covid-19>