



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE
UNA FORMULACIÓN INTRAMUSCULAR DE ETORICOXIB DE
GINSBERG ECUADOR S.A. *IN VIVO* EN RATAS DE
LABORATORIO (*Rattus norvegicus*)”**

TRABAJO DE TITULACIÓN

TIPO: TRABAJO EXPERIMENTAL

Presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTORA: JOSELYN GABRIELA PILCO LÓPEZ

TUTOR: BQF. DIEGO RENATO VINUEZA TAPIA., M.Sc.

Riobamba-Ecuador

2018

©2018, Joselyn Gabriela Pilco López

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Trabajo de Titulación certifica que el trabajo experimental: “EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE UNA FORMULACIÓN INTRAMUSCULAR DE ETORICOXIB DE GINSBERG ECUADOR S.A. *IN VIVO* EN RATAS DE LABORATORIO (*Rattus norvegicus*)”, de responsabilidad de la señorita, Joselyn Gabriela Pilco López, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal de titulación, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

BQF. Diego Vinueza Tapia., M.Sc.

**DIRECTOR DEL TRABAJO
DE TITULACIÓN**

BQF. Gisela Pilco Bonilla, M.Sc.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Yo, Joselyn Gabriela Pilco López declaro que el presente Trabajo de titulación es de mi total autoría, por lo tanto, los resultados expuestos en el mismo son originales y auténticos. Los textos constantes en el presente documento provenientes de otra fuente están formalmente citados y referenciados.

Como autora, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación.

Joselyn Gabriela Pilco López

060463388-3

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios por haberme permitido llegar hasta este momento tan importante de mi formación profesional, por fortalecer mi corazón y a pesar de los obstáculos que se presentaron durante este arduo camino iluminar mi mente y llenarme de su amor incondicional, a mis amados padres y hermanos, razón e inspiración para alcanzar el éxito, finalmente a mis angelitos del cielo Víctor y Rosita quienes día a día con su bendición hacían posible cada logro académico alcanzado.

Joselyn Gabriela

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios, por darme salud y oportunidad de vivir, por estar a mi lado en cada paso y por haber puesto en mi camino a personas extraordinarias quienes han sido soporte y compañía durante todo mi trayecto estudiantil.

A mis padres, Alfonso y Elvia, por darme la vida, porque con su ejemplo de esfuerzo y sacrificio me hicieron entender que todo es posible, por haber inculcado en mí los mejores valores humanos y sobre todo por su apoyo incondicional.

A mis hermanos, por ser ejemplo digno de hermanos mayores, quienes con sus palabras de aliento me motivan a ser una mejor persona cada día, por representar la unidad familiar y más que nada por su amor.

Al BQF. Diego Vinueza, Director del presente estudio quien ha sido guía, dedicando su esfuerzo y tiempo para el desarrollo de esta investigación, de quien he recibido apoyo y motivación incondicional a lo largo de la carrera.

A mis maestros quienes con sus conocimientos han contribuido con mi formación académica; a mis amigos con quienes he reído y he llorado, y quienes me han brindado apoyo y compañía en momentos de dificultad.

A la empresa farmacéutica Ginsberg S.A., por depositar en mí la confianza de realizar mi trabajo de titulación y darme la oportunidad de tener una experiencia que contribuye en mi crecimiento en el ámbito laboral.

Al talento humano de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, por abrirme las puertas para educarme en tan prestigiosa institución.

Joselyn Gabriela

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

IM	Intramuscular
AINEs	Antiinflamatorios no esteroideos
AINEt	Antiinflamatorios no esteroideos tradicionales
OMS	Organización Mundial de la Salud
EAM	Enfermedades asociadas al medicamento
AA	Ácido araquidónico
COX	Enzima ciclooxigenasa
FDA	Food and Drug Administration
PG	Prostaglandinas
AMPc	Adenosin monofosfato cíclico
CMC	Chemistry manufacturing and controls
IF	Inflamación
T1	Tratamiento 1 Vehículo usado en la formulación de ECOXIB®BLISPACK
T2	Tratamiento 2 ECOXIB®BLISPACK
T3	Tratamiento 3 Dynastat®

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	xiv
SUMMARY.....	xv
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	
1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL.....	4
1.1 Inflamación.....	4
<i>1.1.1 Definición.....</i>	<i>4</i>
<i>1.1.2 Tétrada de Celso en la Inflamación</i>	<i>5</i>
<i>1.1.3 Tipos de Inflamación</i>	<i>6</i>
<i>1.1.3.1 Inflamación Aguda.....</i>	<i>6</i>
<i>1.1.3.2 Inflamación crónica.....</i>	<i>6</i>
<i>1.1.4 Mediadores químicos de la inflamación</i>	<i>7</i>
<i>1.1.4.1 Mediadores de origen celular.....</i>	<i>8</i>
<i>1.1.4.2 Mediadores de Origen Plasmático</i>	<i>8</i>
<i>1.1.5 Fases de la Inflamación.....</i>	<i>9</i>
1.2 Antiinflamatorios	11
<i>1.2.1 Definición.....</i>	<i>11</i>
<i>1.2.2 Antiinflamatorios esteroideos o glucocorticoides</i>	<i>11</i>
<i>1.2.2.1 Definición.....</i>	<i>11</i>
<i>1.2.2.2 Mecanismo de acción.....</i>	<i>11</i>
<i>1.2.3 Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs).....</i>	<i>12</i>
<i>1.2.3.1 Definición.....</i>	<i>12</i>
<i>1.2.3.2 Clasificación de los AINEs</i>	<i>13</i>
<i>1.2.3.3 Mecanismo de acción.....</i>	<i>15</i>
<i>1.2.3.4 Coxibs</i>	<i>15</i>
<i>1.2.4 Vías de administración</i>	<i>16</i>
<i>1.2.4.1 Vías sistémicas</i>	<i>16</i>
1.3 Fases para el desarrollo de un nuevo medicamento.....	17
<i>1.3.1 Fase de descubrimiento</i>	<i>17</i>

1.3.2	<i>Fase pre-clínica</i>	18
1.3.3	<i>Fase clínica</i>	18
1.3.4	<i>Fase de aprobación y registro</i>	19
1.3.5	<i>Fase de desarrollo químico farmacéutico</i>	19
1.4	Modelos de evaluación de la actividad antiinflamatoria	19
1.4.1	<i>Modelos de evaluación in vivo</i>	19
1.4.1.1	<i>Edema plantar por carragenina</i>	20
1.4.1.2	<i>Protocolo experimental por aceite de crotón</i>	20
1.4.1.3	<i>Edema auricular en ratón inducido por TPA (acetato de tetradecanoil forbol)</i> 20	

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	21
2.1	Lugar de la investigación	21
2.2	Tipo y diseño de la investigación	21
2.3	Unidad de análisis	21
2.4	Población y muestra de estudio	21
2.5	Tamaño de la muestra	22
2.6	Selección de la muestra	22
2.7	Materiales, equipos y reactivos para la determinación de la actividad antiinflamatoria.	22
2.7.1	<i>Materia prima</i>	22
2.7.1.1	<i>Área descriptiva del medicamento</i>	22
2.7.2	<i>Reactivos biológicos</i>	23
2.7.2.1	<i>Descripción de los animales de experimentación</i>	23
2.7.2.2	<i>Condiciones ambientales</i>	24
2.7.3	<i>Equipos</i>	24
2.7.4	<i>Materiales</i>	24
2.7.5	<i>Reactivos</i>	25
2.8	Métodos y técnicas	25
2.8.1	<i>Método de inducción de edema plantar con carragenina</i>	25
2.8.2	<i>Evaluación de la actividad antiinflamatoria</i>	26

2.8.3	<i>Periodo de ambientación</i>	27
2.8.4	<i>Modelo experimental</i>	27
2.8.5	<i>Valoración del efecto antiinflamatorio</i>	30
2.8.6	<i>Análisis estadístico</i>	30
2.8.7	<i>Planteamiento de la hipótesis</i>	31

CAPÍTULO III

3.	MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	32
3.1	Inducción de la inflamación con carragenina	32
3.2	Evaluación del efecto antiinflamatorio en el edema plantar.	34

	CONCLUSIONES	41
--	---------------------------	-----------

	RECOMENDACIONES	42
--	------------------------------	-----------

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

INDICE DE TABLAS

Tabla 1-1: Mediadores en la respuesta inflamatoria	9
Tabla 1-2: Diseño del modelo experimental para la evaluación de la actividad antiinflamatoria de ECOXIB®BLISPACK.....	28
Tabla 1-3: Media de resultados de la desinflamación por acción de cada tratamiento a diferentes tiempos y error correspondiente a cada tiempo.....	35
Tabla 2-3: Representación de la igualdad o desigualdad en la actividad desinflamatoria de los tres tratamientos administrados a diferentes tiempos.....	36

INDICE DE FIGURAS

Figura 1-1: Signos de la Inflamación.....	6
Figura 2-1: Tipos de Inflamación	7
Figura 3-1: Mecanismo del proceso inflamatorio.....	10
Figura 4-1: Clasificación de AINEs según la selectividad por la ciclooxigenasa.....	13
Figura 5-1: Clasificación de AINEs de acuerdo al grupo terapéutico.	14
Figura 6-1: Clasificación de AINEs de acuerdo a su vida media.	14
Figura 1-2: esquema de la evaluación de la actividad antiinflamatoria.....	29
Figura 2-2: Esquema de la etapa experimental en la evaluación de la actividad antiinflamatoria de ECOXIB.	29
Figura 3-2: calibrador digital usado para la obtención de las medidas del edema suplantado. ...	30
Figura 4-3: Representación gráfica del paralelismo correspondiente a la desinflamación a diferentes tiempos de los tratamientos administrados.....	37
Figura 5-3: Representación gráfica de la desinflamación a diferentes tiempos por acción cada uno de los tres tratamientos administrados.	37

INDICE DE ANEXOS

ANEXO A: Tabla de medias

ANEXO B: Análisis estadístico de la comparación entre los tres tratamientos aplicados para evaluar la actividad antiinflamatoria

ANEXO C: Evaluación de la actividad antiinflamatoria.

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad antiinflamatoria de una formulación intramuscular de ECOXIB®BLISPACK, medicamento diseñado por la industria farmacéutica GINSBERG ECUADOR S.A ubicada en la ciudad de Quito. ECOXIB®BLISPACK tiene una presentación de jeringa pre-llenada por 1 mL que contiene 90 mg del principio activo Etoricoxib, antiinflamatorio no esteroideo perteneciente a la familia de los COXIB los cuales inhiben selectivamente a la COX-2. En la actualidad, las enfermedades inflamatorias son un problema social muy importante a nivel mundial, por ello es indispensable que la industria farmacéutica contribuya en la búsqueda de nuevas opciones de terapia que sean eficaces y con el mínimo riesgo de originar efectos adversos por los fármacos tradicionalmente usados. Para el estudio se utilizaron 12 ratas hembras (Wistar) de entre 2-3 meses de edad y de 200-250 g de peso, que fueron distribuidas en 4 bloques cada uno de ellos con ratas de pesos similares, cada bloque estaba conformado por 3 unidades experimentales a las que se indujo inflamación aguda con una solución de carragenina al 1% mediante inyección en la región sub-plantar de la pata derecha y posteriormente tratadas con el vehículo usado en la formulación de ECOXIB®BLISPACK (T1) como blanco, ECOXIB®BLISPACK (T2) y medicamento de referencia Dynastat® (T3) como control. El grado de inflamación del edema sub-plantar fue medido con un calibrador digital con una resolución de 0,1 mm a diferentes tiempos, 0, 1, 2, 4, 8, 12, 20, 24 y 27 horas; luego de la inducción de la inflamación con carragenina. En conclusión, se puede determinar que tanto ECOXIB®BLISPACK medicamento diseñado por la industria farmacéutica GINSBERG ECUADOR S.A como Dynastat® (medicamento de referencia) inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa 2, pertenecientes al grupo terapéutico M01AH antiinflamatorios y antirreumáticos (antiinflamatorios no esteroideos) presentan la misma actividad antiinflamatoria en función del tiempo cuando se compararon estadísticamente.

Palabras claves: <Ginsberg>, <Etoricoxib>, <ECOXIB®BLISPACK>, <parecoxib>, <Dynastat® >, <antiinflamatorio>, <antirreumático>, <edema sub-plantar>, <carragenina>.

SUMMARY

The aim of the research was to evaluate the anti-inflammatory activity of an intramuscular formulation of ECOXIB®BLISPACK, medicine designed by the GINSBERG ECUADOR S.A pharmaceutical industry is located in the city of Quito. ECOXIB ® BLISPACK has a 1 mL pre-filled syringe presentation containing 90 mg of the Etoricoxib active ingredient, a non-steroidal anti-inflammatory substance belonging to the COXIB family which selectively inhibits COX-2. Nowadays, inflammatory diseases are a very important social problem worldwide, so it is essential that the pharmaceutical industry contributes to the search for new therapy options that are effective and with the minimum risk of originating adverse effects from traditionally used drugs. For the study, 12 female rats (Wistar) between 2-3 months of age and 200-250 g of weight were used, that were distributed in 4 blocks each of them with rats of similar weights, each block was conformed by 3 experimental units to which it was induced inflames with a 1% solution of carrageenan by injection in the sub-planting region of the right leg and subsequently treated with the vehicle used in the formulation of ECOXIB ® BLISPACK (T1) as white, ECOXIB ® BLISPACK (T2) and Dynastat ® reference drug (T3) as control. The degree of inflammation of the edema was measured with a digital calibrator with a resolution of 0.1 mm at different times, 0, 1, 2.4, 8, 12, 20.24 and 27 hours; after induction of inflammation with carrageenan. In conclusion, it can be determined that both ECOXIB ® BLISPACK medicine designed by the pharmaceutical industry GINSBERG ECUADOR S. A as Dynastat ® (reference drug) are selective inhibitors of cyclooxygenase 2, belonging to the therapeutic group M01AH anti-inflammatory and anti-rheumatic (non-steroidal anti-inflammatory), showed significantly different differences in the anti-inflammatory activity.

KEY WORDS: : <BIOCHEMISTRY>, < ANTI-FLAMATORY ANALYSIS >, < ETORICOXIB (drug) >, < ECOXIB ® BLISPACK (drug) >, < PARECOXIB (drug) >, < Dynastat ® (drug) >, <ANTI-FLAMATORY>, <ANTI-RHEUMATIC>, < EDEMA >, <CARRAGEENAN>.

INTRODUCCIÓN

El organismo vivo, así como cualquier organismo pluricelular posee medios para defenderse ante cualquier agresión que afecte a sus tejidos. De tal forma que las agresiones tanto exógenas como endógenas van a inducir una cascada defensiva en la que actúa la inmunidad innata a través del proceso inflamatorio, para de este modo lograr aislar la lesión, destruir el agente causante de la misma y reparar el tejido y órgano afectado (Mitchell, Kumar, Abbas, Fausto, & Aster, 2012).

El proceso inflamatorio es una reacción o mecanismo defensivo natural del sistema inmunológico del organismo vivo, que se da en respuesta a un daño originado a células o tejidos por agentes lesivos que pueden ser tanto microorganismos como bacterias, hongos y parásitos, traumatismos, necrosis, agentes físicos o químicos o reacciones inmunitarias (Villalba Herrera, 2014).

Las características principales que conlleva una inflamación son especialmente calor, rubor, dolor y edema, a esto se suma un último signo la pérdida de funcionalidad del órgano afectado según Rudolf Virchow, médico alemán. Además, presenta cambios fisiopatológicos vasculares y celulares (Montes & Fraguas, 2012).

Un proceso inflamatorio puede presentar una serie de complicaciones crónicas como por ejemplo la fatiga crónica, colitis, gastritis, falta de energía, depresión, si estos procesos no son tratados correctamente el paciente no logra alcanzar el estado de salud esperado y pueden surgir patologías graves como por ejemplo el cáncer (Gómez, et al., 2011 pp. 182-217).

Actualmente, muchos medicamentos ayudan en el tratamiento del proceso inflamatorio como es el caso de los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), el grupo farmacológico más consumido en el mundo, representan los primeros fármacos usados como prioridad de la Escalera analgésica de la Organización Mundial de la Salud (OMS) seguidos de los opioides débiles y finalmente, los opioides potentes (Prieto Setién & Juan Manuel, 2007).

Los AINEs llamados también antiflogísticos, analgésicos no opioides (ANOP) o antiinflamatorios no esteroideos tradicionales (AINEt), son fármacos bien tolerados, tienen acción rápida y un efecto máximo o de techo, es decir, que el aumento de la dosis de éste no

compromete una mejoría terapéutica pero si una mayor aparición de efectos adversos medicamentosos (EAM) por lo que, es recomendable no aumentar las dosis especificadas. El término AINEt se estableció luego del apareamiento de los Coxib (Prieto Setién & Juan Manuel, 2007).

Los AINEs actúan directamente sobre el metabolismo del Ácido Araquidónico (AA), específicamente bloquean a la enzima ciclooxigenasa (COX) tanto COX-1 como COX-2, e inhiben la síntesis de eicosanoides como prostaglandinas, tromboxanos y prostaciclina, lo que hace posible la acción farmacológica y el desencadenamiento de efectos adversos (Michel Batlouni, 2009).

El grupo de fármacos AINEt actúan de forma principal inhibiendo la enzima COX-1, y ésta es responsable de la síntesis de prostaglandinas que se ocupan de mantener la integridad y proliferación de la mucosa gástrica, asegurando un adecuado riego sanguíneo. Varios estudios comprueban que existe una estrecha relación entre los AINEt y daño gastrointestinal, en pacientes consumidores se observa que de un 15 al 20% presentan úlcera gástrica (Leyva Islas Rocío, Martínez Rueda Octavio, Naranjo Ricoy Guillermo, & Balcázar Vázquez Ricardo, 2007).

En el año 1999 la Agencia Norteamericana de control de Medicamentos y Alimentos, Food and Drug Administration (FDA), autorizó los primeros antiinflamatorios selectivos de la COX-2 llamados actualmente Coxib, lo que provocó un entusiasmo a nivel médico mundial puesto que se disponía por primera vez de una molécula capaz de tratar y controlar el dolor y la inflamación respetando a la enzima COX-1 y lo más importante, con menores posibilidades de desencadenar EAM específicamente a nivel gastrointestinal (Prieto Setién & Juan Manuel, 2007).

En la actualidad, existen muchas investigaciones científicas acerca del tratamiento del proceso inflamatorio con el fin de evitar las ya mencionadas complicaciones, con lo que permite a la industria de los medicamentos y a las ciencias médicas el descubrimiento de nuevos antiinflamatorios no esteroides, los mismos que tienen, poco efecto sobre el sistema nervioso central (SNC) y no producen dependencia física ni psíquica, a su vez que cumplen con su eficacia y tienen el mínimo porcentaje en efectos adversos particularmente gastrointestinales y cardiovasculares (Prieto Setién & Juan Manuel, 2007).

La EMPRESA FARMACÉUTICA GINSBERG ECUADOR S.A ha desarrollado un producto innovador que contiene el principio activo ETORICOXIB con nombre comercial ECOXIB®BLISPACK de administración intramuscular, perteneciente a los inhibidores de la

COX-2, que es usado principalmente para tratamiento sintomático de osteoartritis, artritis reumatoide, artritis gotosa aguda, dolor lumbar y dolor agudo post operatorio.

En el trabajo de investigación desarrollado se planteó realizar la evaluación de la actividad antiinflamatoria de la formulación intramuscular de ETORICOXIB *in vivo* en ratas de laboratorio, ya que esta fase de estudio (fase preclínica) es de vital importancia para seguir con los respectivos estudios de calidad efectividad y seguridad del fármaco.

OBJETIVOS

Objetivo General.

Determinar la actividad antiinflamatoria de ETORICOXIB intramuscular de GINSBERG ECUADOR S.A. *in vivo* en ratas de laboratorio (*Rattus norvegicus*).

Objetivos Específicos.

- Inducir edema plantar sobre los individuos experimentales, mediante la inyección subcutánea de carragenina.
- Determinar el tiempo de reducción del edema plantar aplicando tres tratamientos etoricoxib (10 mg/kg), Dynastat® (4 mg/kg) y vehículo (10 mg/kg).
- Comparar la eficacia de cada tratamiento mediante análisis comparativo del índice de reducción de la inflamación.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1 Inflamación

1.1.1 *Definición*

Se define como la respuesta fisiológica del organismo en forma localizada y protectora hacia los diferentes tejidos provocando de tal manera reacciones tanto humorales, celulares y vasculares, de forma directa en el lugar de la lesión, con el fin de desencadenar una serie de acontecimientos que contribuyan a la reconstrucción y curación del tejido dañado, este proceso se produce de manera inmediata y continua en el organismo (Montero et al, 2001: p 69).

La inflamación engloba un grupo considerable de reacciones como respuesta a una agresión exógena o endógena directamente en algún tejido vivo que se encuentra vascularizado, durante todo este proceso intervienen una serie de mediadores inflamatorios como histamina, serotonina, prostaglandinas, citoquinas, entre otras; produciendo vasodilatación, aumento de la permeabilidad, dolor y fiebre signos característicos de la inflamación (Duce, 2004).

El objetivo principal de la inflamación es la defensa que produce el organismo ante un ataque, sin este proceso los microorganismos invaden tejidos y órganos vitales y los destruyen, no se da el proceso de cicatrización y reparación de traumatismo (Duce, 2004).

Los aspectos importantes en un proceso inflamatorio son principalmente tres:

- ✓ En primer lugar, se puede observar la focalización de la respuesta, que permite la circunscripción de la zona de lucha en contra del agente agresor.
- ✓ En segundo lugar, podemos apreciar que la respuesta inflamatoria ante un agente agresor es inmediata, urgente y, por lo tanto, se manifiesta de una manera inespecífica, posteriormente, dicha respuesta puede desarrollarse de manera específica.

- ✓ Por último, en tercer lugar el foco inflamatorio atrae a la mayoría de las células inmunes que se encuentran en tejidos cercanos al lugar de la inflamación (Regal et al., 2015).

1.1.2 Tétrada de Celso en la Inflamación

Aulo Cornelio Celso, observador médico contribuyó con la obra <<De re médica>> en la cual define a la inflamación como la evidencia de cuatro signos importantes en un grupo de enfermedades; esta definición se mantiene hasta tiempos actuales, dichos signos fueron descritos por la observación de los mismos pacientes (Bonmatí, Moreno, & Garmendia, 2004a).

El primer signo señalado por Celso es el tumor, el cual se evidencia como resultado del edema que es originado por la exudación de líquido intersticial en las partes blandas del tejido afectado.

El segundo signo que evidencia inflamación es el rubor, que se presenta como un enrojecimiento debido al aumento de la presión por la vasodilatación (Bonmatí et al., 2004b).

El tercer signo de inflamación es el calor, es decir el aumento de la temperatura específicamente en la zona inflamada, que resulta de la vasodilatación y del aumento en el consumo local del oxígeno (Bonmatí et al., 2004c).

El cuarto signo de la inflamación según Celso es el dolor, éste aparece como resultado de la liberación de algunas sustancias que son capaces de activar a los nociceptores (receptores del dolor), como la histamina y las prostaglandinas (Bonmatí et al., 2004d). La pérdida o disminución funcional o perturbación funcional es un quinto signo de la inflamación, propuesta por Virchow médico alemán en el año 1859, este signo ocurre como respuesta de la síntesis de mediadores como histamina, prostaglandinas y leucotrienos y por la lesión que es mediada por leucocitos (Ricci, 2014).

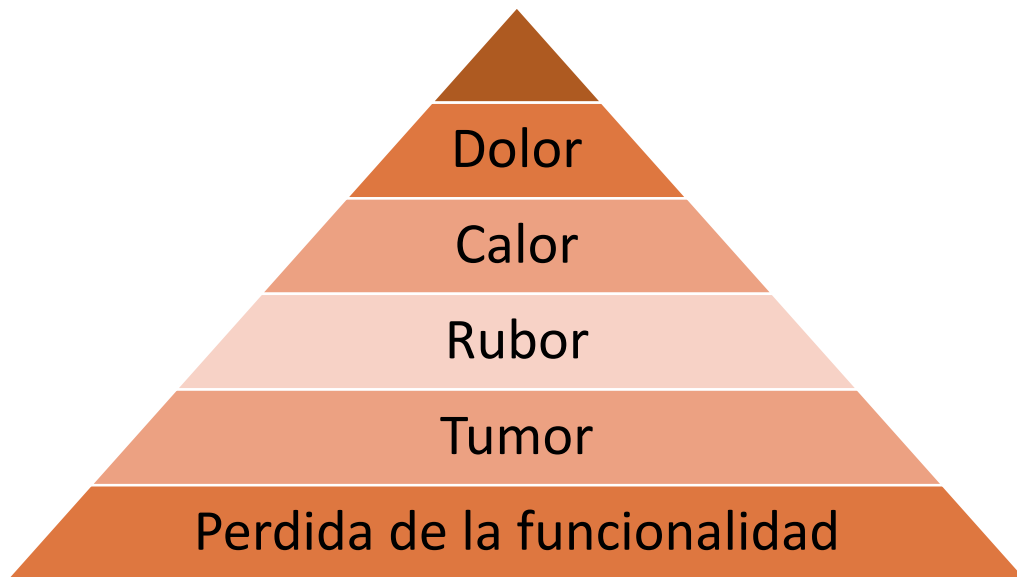


Figura 1-1: Signos de la Inflamación

Fuente: (Milagros León Regal et al., 2015)

1.1.3 Tipos de Inflamación

La inflamación se puede clasificar dependiendo los tipos de leucocitos que predominen en el foco inflamatorio, y del tiempo de duración de ésta (Muñoz, 2013).

1.1.3.1 Inflamación Aguda

Se caracteriza particularmente porque aparece en las primeras etapas de la lesión tisular o celular, tiene una duración corta, puede durar entre minutos, horas o pocos días, presenta edema y exudado de fluidos ricos en proteínas, en la inflamación aguda se puede observar que existe un predominio de neutrófilos y puede progresar de una forma rápida a inflamación crónica (Stanier, 1996, p 635, a).

1.1.3.2 Inflamación crónica

Se produce porque existe presencia de otras infecciones persistentes, es decir otras enfermedades, es un tipo de inflamación progresiva, tiene una larga duración, semanas, meses o años, en este tipo de inflamación predomina la presencia de macrófagos y linfocitos, en muchos de los casos las reacciones no son dañinas para tejidos del hospedero sino que se produce por la sensibilidad de éste ante el agente agresor, es productiva o proliferativa, lo cual contribuye con

la aparición de un soporte estructural y nutritivo de colágeno gracias a los fibroblastos en el sitio de la lesión contribuyendo así con el proceso de reparación (Stanier, 1996, p 636, b). La inflamación crónica en resumen es la suma de todas las respuestas por parte de los tejidos en contra de un agente agresor nocivo para el hospedero, puede ser de tipo bacteriano, viral, físico, químico, inmunológico, etc. Puede producirse por la existencia de enfermedades inflamatorias del mecanismo inmunitario o por la exposición prolongada a agentes tóxicos (EcuRed, 2018).

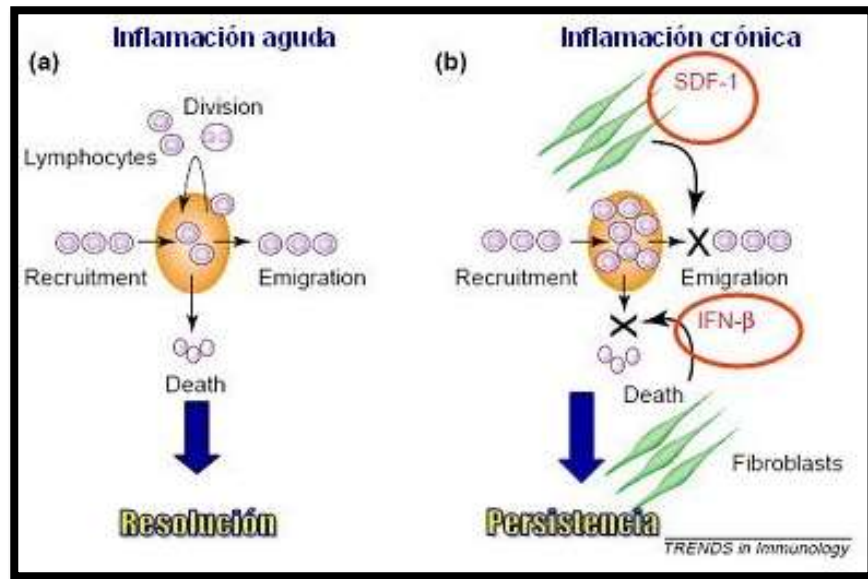


Figura 2-1: Tipos de Inflamación

Fuente: (Marinovic, 2008)

1.1.4 Medidores químicos de la inflamación

Los mediadores de la inflamación regulan la respuesta vascular a la agresión, se originan de las células o del plasma, se unen a receptores específicos que se encuentran en la o las células diana, su efecto es distinto según el tipo de célula y tejido en el que actúan, cuando son activados y liberados de la célula tienen una corta duración de acción, los mediadores en su mayoría pueden producir efectos perjudiciales (G de la Fuente, 2004).

1.1.4.1 Mediadores de origen celular.

1.1.4.1.1 Mediadores preformados en gránulos secretores

Dentro de estos mediadores químicos se encuentra la histamina, que se encarga de la dilatación de las arteriolas, aumenta la permeabilidad de las vénulas y activa a las células endoteliales. La histamina se forma en los gránulos de los mastocitos, basófilos y plaquetas y se libera en respuesta al frío o calor, reacciones alérgicas, liberación de anafilotoxinas (C3a y C5a), leucocitos y citocinas (IL-1, IL-8) (Toledo Yupanqui, 2014, a).

Otro mediador de origen celular es la serotonina que se forma en las plaquetas y en las células entero-endócrinas, tiene la característica de ser vasoactiva, se libera de las plaquetas cuando entra en contacto con el colágeno, trombina o el complejo antígeno-anticuerpo, produciendo aumento de la permeabilidad vascular y vasodilatación (Toledo Yupanqui, 2014, b).

1.1.4.1.2 Medidores de Nueva Síntesis

Se derivan del ácido araquidónico, dentro de este grupo se encuentran las prostaglandinas, leucotrienos y las lipoxinas; las enzima ciclooxygenasas COX-1 sintetiza tromboxano en plaquetas y macrófagos, PGI₂ en célula endotelial y plaquetas y PGE₂ en ovario y útero, en tanto que la COX-2 es originada por un estímulo inflamatorio y promueve la formación de mediadores proinflamatorios específicamente E₂, D₂, I₂; la lipooxygenasa sintetiza lipoxinas y leucotrienos (Octavio Amancio, 2002).

Las prostaglandinas tienen mucha importancia clínica y una gran actividad biológica en muchas reacciones vasculares y sistémicas, las más importantes en el proceso inflamatorio son la PGE₂, PGD_{2a}, PGF_{2a}, PGI₂ y TxA₂ que son responsables de la vasodilatación, broncodilatación e inhibición de la función de las células inflamatorias, una vez sintetizadas son liberadas al organismo por difusión facilitada (Pérez & Gámez, 1998).

1.1.4.2 Mediadores de Origen Plasmático

Su formación es hepática, a nivel sistémico se encuentran inicialmente como precursores inactivos que necesitan ser activados por medio de escisiones proteolíticas. Participan en la defensa contra microorganismos provocando lisis de los mismos y en procesos inmunitarios, además; se caracterizan por producir aumento de permeabilidad, quimiotaxis y opsonización; a

este grupo pertenecen el sistema del complemento, sistema de coagulación y el sistema de quininas (Berrón-Pérez, *et al* 2003).

Tabla 1-1: Mediadores en la respuesta inflamatoria

Mediador	Acción
Histamina y serotonina (aminas vasoactivas)	Incremento de la permeabilidad
Bradicinina	Incremento de la permeabilidad y dolor
C3a (producto del complemento, anafilotoxinas)	Incremento de la permeabilidad opsonina
C5a (producto del complemento, anafilotoxinas)	Incremento de la permeabilidad, quimiotaxis, adhesión y activación leucocitaria
Prostaglandinas (metabolitos del ácido araquidónico)	Vasodilatación, fiebre, activa a otros mediadores
Leucotrieno B ₄ (metabolitos del ácido araquidónico)	Quimiotaxis, adhesión y activación leucocitaria
Leucotrieno C ₄ , D ₄ , E ₄ (metabolitos del ácido araquidónico)	Incremento de la permeabilidad, broncoconstricción, vasoconstricción
Metabolitos del oxígeno (radicales libres)	Incremento de la permeabilidad, lesión endotelial y tisular
Factor activador de plaquetas (PAF)	Incremento de la permeabilidad, broncoconstricción, cebado de leucocitos
Interleucina-1 (IL-1) y Factor de necrosis tumoral (TNF) (citocinas)	Reacciones de fase aguda, activación endotelial, Quimiotaxis
Oxido Nítrico	Incremento de la permeabilidad, vasodilatación, citotoxicidad

Fuente: (León et al, 2015: p49)

Realizado por: Joselyn Pilco, 2018

1.1.5 Fases de la Inflamación

El proceso inflamatorio es considerado muy complejo y está constituido de cinco etapas, las cuales se describen a continuación:

- a) Liberación de los mediadores. - moléculas de estructura elemental son sintetizadas y liberadas gracias al mastocitos luego de recibir determinados estímulos.

- b) Efecto de los mediadores. - cuando los mediadores ya se han liberado, se producen efectos quimiotácticos y una serie de alteraciones vasculares, contribuyendo de este modo a la llegada de células inmunes y moléculas al sitio donde se presenta el foco infeccioso.
- c) Llegada de moléculas y células inmunes. - las moléculas y células llegan al foco inflamatorio desde la sangre en su mayoría, también proceden de zonas cercanas al foco inflamatorio en menores cantidades.
- d) Regulación del proceso inflamatorio. - así como en la mayoría de las respuestas inmunes, también en la inflamación se presenta una serie de mecanismos inhibidores con el objetivo de finalizar o equilibrar este proceso.
- e) Proceso de Reparación. - inicia una vez que el causante de la inflamación ha desaparecido, en esta etapa actúan los fibroblastos sintetizando colágeno y promoviendo la proliferación de vasos y células epiteliales, reparando de forma parcial o total los tejidos dañados (Gonzales et al, 2010).

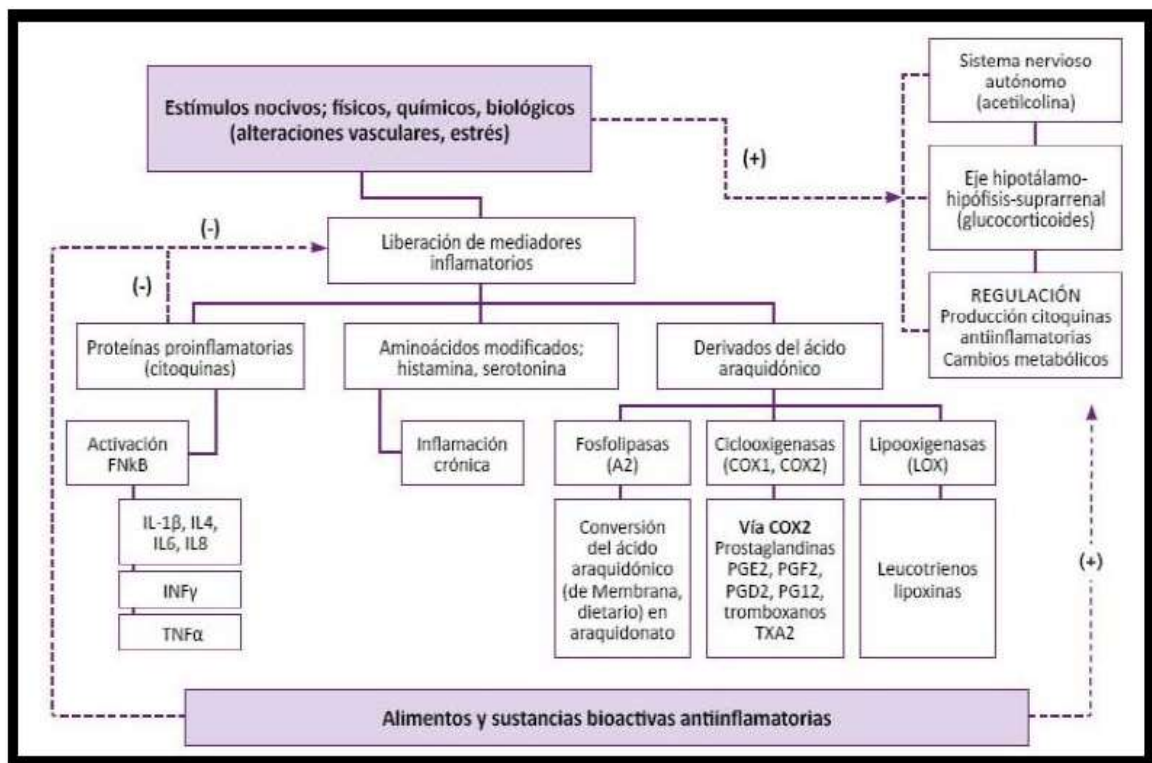


Figura 3-1: Mecanismo del proceso inflamatorio

Fuente: (Caelles, 2017)

1.2 Antiinflamatorios

1.2.1 Definición

Se consideran antiinflamatorios a los fármacos que se usan para controlar las manifestaciones de un proceso inflamatorio como calor, dolor, fiebre, tumoración o pérdida de la funcionalidad que se originan en el interior o exterior del cuerpo. El avance de la ciencia médica ha permitido desarrollar fármacos necesarios para tratar las manifestaciones anteriormente descritas. Existen dos grupos importantes de antiinflamatorios los esteroideos o también llamados glucocorticoides y los no esteroideos (AINEs) (García de Lorenzo, Mateos, López Martínez, & Sánchez Castilla, 2000).

1.2.2 Antiinflamatorios esteroideos o glucocorticoides

1.2.2.1 Definición

Este tipo de fármacos cumplen un rol muy importante en el proceso inflamatorio, ya que inhiben la producción de numerosos factores celulares como las citocinas, actúan disminuyendo la liberación de factores vasoactivos y quimiotácticos, se llaman medicamentos corticoides, dado que son ligandos similares a las hormonas que se elaboran en las glándulas suprarrenales (Flórez, 2014).

1.2.2.2 Mecanismo de acción

Los receptores de esteroides se encuentran dentro de la célula. Así, los fármacos esteroides ingresan a la célula mediante difusión pasiva, en la que se fijan al receptor específico en el citoplasma de los tejidos diana. Para que este tipo de antiinflamatorios sean de acción potente se debe inducir la expresión de las anexinas (lipocortinas), que son un grupo de proteínas capaces de inhibir la formación de fosfolipasa A₂, interfiriendo así con la producción de sustancias proinflamatorias como prostaglandinas, leucotrienos y tromboxanos y disminuyendo su síntesis y liberación (Serra, Roganovich, & Rizzo, 2012).

1.2.3 Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs)

1.2.3.1 Definición

Corresponden a un grupo de fármacos que tienen diferente clase química, dentro de los cuales se encuentran principalmente el indol, derivados del ácido acetil salicílico, p-aminofenol, coxib, entre otros. Su principal función radica en inhibir la ciclo-oxigenasa (COX), dentro de este grupo existen antiinflamatorios no esteroideos selectivos para la COX-2, más conocidos como COXIBS y antiinflamatorios no esteroideos no selectivos conocidos también como convencionales o tradicionales (Batlouni, 2010, pp 338).

Son el grupo de medicamento más prescrito a nivel mundial, y son usados principalmente para tratar cuadros de inflamación, edema, dolor, artritis, osteoartritis, entre otras patologías. Existe una gran cantidad de principios activos dentro del mercado farmacéutico, pero sólo 18 incluyendo los antiinflamatorios selectivos de la COX-2 están aprobados por la FDA para su comercialización.

Los antiinflamatorios no esteroideos son compuestos que se relacionan de forma química por ser ácidos orgánicos, en medio ácido son de carácter lipofílico y poseen gran afinidad por las proteínas plasmáticas, la reunión de todas estas características principales determinan su efectividad farmacológica y una buena distribución selectiva hacia los tejidos inflamados (Barrientos et al., 2009).

Este tipo de antiinflamatorios tiene tres efectos principales:

- Analgésicos. - poseen una eficacia moderada y no ejercen acción directa sobre la corteza cerebral, sin embargo en la actualidad existen estudios que prueban que ciertos AINEs ejercen su acción a nivel periférico y a nivel central, actúan sobre mecanismos que están involucrados en la percepción y en la transmisión del dolor y sobre todo en la modulación de la inflamación (Bertram et al, 2005).
- Antipiréticos. - ayudan a disminuir la temperatura corporal.
- Antiinflamatorios. - impiden que se desarrollen procesos inflamatorios de distinta naturaleza (Villar, 2006).

1.2.3.2 Clasificación de los AINEs

Los antiinflamatorios no esteroideos se pueden clasificar de acuerdo a:

- Selectividad para ciclooxigenasa
- Estructura química
- Vida media plasmática

<i>ACCIÓN</i>	<i>REPRESENTANTES</i>
INHIBIDORES NO SELCTIVOS COX-1	Derivados de salicilatos
	Acetaminofén
	Indametacina
	Ibuprofeno
	Naproxeno
	Piroxicam
	Ácido mefenámico
INHIBIDORES SELCTIVOS COX-2	Diclofenaco
	Rofecoxib
	Celecoxib
	Ácidos endolacéticos
Sulfonalidinas (nimesulida)	

Figura 4-1: Clasificación de AINEs según la selectividad por la ciclooxigenasa

Fuente: (Batlouni, 2010, pp 338)

GRUPO TERAPÉUTICO	FÁRMACO
salicilatos	Ácido acetilsalicílico, salsalato, diflunisal
Pirazolonas	Fenilbutazona
Indolacéticos	Indometacina, tolmetín, sulindaco
Arilacéticos	Diclofenaco, nabumetona
Oxicams y análogos	Piroxican, tenoxicam, meloxicam
Fenamatos	Ácido mefenamico
Inhibidores selectivos de la COX-2	Celecoxib, etoricoxib, lumiracoxib

Figura 5-1: Clasificación de AINEs de acuerdo al grupo terapéutico.

Fuente: (Gómez et al, 2008, pp 470)

ANALGESICOS	VIDA MEDIA CORTA	VIDA MEDIA LARGA
Salicilatos	Ácido acetilsalicílico	diflunisal
Pirazolonas	-	Fenilbutazona
Indolacéticos	Indometacina	Sulindaco
Arilpropiónicos	Ibuprofeno	Naproxeno
Oxicams y análogos	-	Piroxicam, tenoxicam, meloxicam
Inhibidores de la COX-2	-	Celecoxib, etoricoxib, lumiracoxib

Figura 6-1: Clasificación de AINEs de acuerdo a su vida media.

Fuente: (Gómez et al, 2008, pp 470)

1.2.3.3 Mecanismo de acción

Los AINEs bloquean la síntesis de prostaglandinas, aquello se logra al inhibir la acción de las dos isoformas de las COX (COX-1 y COX-2), que son las encargadas de convertir el ácido araquidónico en prostaglandinas, prostaciclina y tromboxanos; que a su vez ejercen función como mediadores de la inflamación tanto a nivel central como a nivel periférico. La acción de los fármacos antiinflamatorios no esteroideos cuando son liberados en los tejidos que han sufrido lesión es principalmente la disminución o desaparición de los signos de la inflamación como son dolor, rubor, fiebre y tumefacción y sobretodo la acción antiinflamatoria en las fibras sensitivas (Fernández, 2015).

1.2.3.4 Coxibs

A inicios de los años noventa se obtuvieron evidencias de la ciclooxigenasa 2, y se comprobó que esta isoforma no se localiza en la célula, sino que era inducible tras la exposición de la célula ante lipopolisacáridos o citocinas pro-inflamatorias. La función de la ciclooxigenasa 2 es regular la producción de prostanoideos mismos que participan en procesos inflamatorios y no inflamatorios (Meijide, A, Carnota, & J, 2000).

Los coxibs antiinflamatorios no esteroideos son selectivos de la ciclooxigenasa 2, son altamente efectivos tal como los AINEs convencionales pero, lo más relevante es que causan menos efectos adversos gastrointestinales, puesto que no atacan a la ciclooxigenasa 1 responsable de la protección gastrointestinal, función plaquetaria y homeostasis vascular (Patrono, Patrignani, & Rodríguez, 2001).

El Celecoxib y rofecoxib fueron los primeros representantes de los coxibs desarrollados en el año 1999 para probar su acción sobre la COX-2, sus resultados fueron muy prometedores demostrando principalmente su efectividad ante procesos inflamatorios y sobre todo con el gran beneficio añadido sobre menores efectos adversos gastrointestinales en los pacientes, permitiendo así el desarrollo de nuevas moléculas inhibitoras específicas de la ciclooxigenasa 2 (Lim & Yang, 2012) (Patrono et al., 2001).

1.2.3.4.1 Etoricoxib

Este fármaco está indicado generalmente para el tratamiento del dolor y la inflamación en artritis reumatoide, osteoartritis y en la artritis gotosa aguda, alivia el dolor lumbar, dolor agudo, dolor agudo postoperatorio moderado a severo, entre otros. Pertenece a los antiinflamatorios no esteroideos inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa 2, en el mercado se encuentra solo en forma farmacéutica para administración oral, tiene una buena absorción, una biodisponibilidad cercana al 100%, en equilibrio su volumen de distribución alcanza los 120 litros y se une en un 92 % a proteínas plasmáticas (Sharma, Kaur, & Sanyal, 2010).

Etoricoxib impide la conversión del ácido araquidónico en endoperóxidos cíclicos, mismos que posteriormente se transformarán en prostaglandinas y tromboxanos principales mediadores proinflamatorios, previniendo de tal manera la activación de nociceptores terminales (receptores del dolor). Según estudios se ha observado que el etoricoxib presenta inhibición dosis dependiente de la COX 2 sin inhibir a la COX 1 en dosis de hasta 150 mg/día, no inhibe la síntesis de prostaglandinas gástricas y no tiene ninguna interacción sobre la función plaquetaria o el efecto antiagregante (Yoo et al., 2014).

1.2.4 Vías de administración

1.2.4.1 Vías sistémicas

Corresponden a las vías de administración de fármacos que luego de su absorción llegan hasta el plasma, por medio del cual se efectúa la distribución por los diferentes tejidos, para que el principio activo luego de alcanzar una concentración adecuada pueda interactuar fácilmente con sus dianas terapéuticas, y así el fármaco pueda ejercer la acción farmacológica para el cual ha sido administrado (Sáez-Jiménez, 2011).

Las vías sistémicas se clasifican en dos tipos:

- Vía de administración enteral. - la vía oral, es el método más común, seguro, cómodo y económico usado para la administración de fármacos, los cuales se absorben gastrointestinalmente y es inevitable el efecto del primer paso hepático.
- Vía de administración parenteral. - vía intravenosa, intramuscular y subcutánea, permiten el ingreso del fármaco hasta el organismo y posteriormente a los tejidos

mediante la ruptura de una barrera con una aguja hueca en su interior, evita el efecto de primer paso hepático. Estas vías son usadas principalmente cuando es necesario que el fármaco actúe de una manera rápida, cuando el fármaco a ser administrado corre riesgo de destruirse por acción de los jugos gástricos y si el paciente presenta vómito o algún problema para deglutir (Casal, 2011).

1.3 Fases para el desarrollo de un nuevo medicamento

El desarrollo de nuevas moléculas dentro de la industria farmacéutica ha permitido el descubrimiento de nuevos fármacos, con los que se pudieron solucionar muchas enfermedades a partir de la comercialización de los mismos. No obstante, muchos de los que fueron comercializados carecían de estudios de investigación clínica sistematizada dando paso a la aparición de efectos adversos severos, tal es el caso de la focomelia ocasionada por la talidomida en el año 1962. Esta situación obliga a los órganos mandatarios a emitir una serie de reglamentos y normas que protejan al ser humano de los efectos negativos relacionados con el medicamento, comprobando de tal manera su seguridad y eficacia y posterior venta (Bovill & Calixto, 2016).

El desarrollar un nuevo medicamento constituye un proceso de larga duración y con costo muy elevado cuyo principal objetivo es demostrar en diversas etapas que el nuevo fármaco reúne cada una de las características de calidad exigidas para su comercialización y administración al ser humano, las etapas por las que debe atravesar el nuevo fármaco son (Kirchner, 2010):

- ✓ Fase de descubrimiento
- ✓ Fase pre-clínica
- ✓ Fase clínica
- ✓ Fase de aprobación y registro
- ✓ Fase de desarrollo químico farmacéutico

1.3.1 Fase de descubrimiento

El descubrimiento de nuevas moléculas para tratar diferentes patologías es un proceso largo y complejo que requiere principalmente de un diseño previo. En primer lugar, se debe tener claro que patología va a tratarse y luego buscar moléculas que tengan actividad biológica relacionada con dicha patología. En la actualidad se usan técnicas como el High Throughput Screening (HTS) o cribado de alta capacidad que permite seleccionar de una manera rápida las moléculas

específicas que reconocen a una diana determinada. A las moléculas reconocidas por esta técnica se les denomina hits los cuales dan la información necesaria de requerimientos estructurales necesarios para interacciones con un receptor (Zhou et al., 2014).

1.3.2 Fase pre-clínica

Una vez que se tiene definido el fármaco a desarrollar, se procede a la fase pre-clínica. Se basa en la aplicación de diversas pruebas realizadas únicamente dentro de un laboratorio, puede ser en animales de experimentación (*in vivo*) o en cultivos de células animales/humanas (*in vitro*), en esta etapa se estudia el mecanismo de acción y la eficacia del fármaco, su objetivo principal es evidenciar la ausencia de efectos adversos. Finalmente, depende de la superación de esta fase para que exista una aprobación por parte de las autoridades regulatorias pertinentes (FDA Food and Drug Administration en EEUU, EMA European Medicines Agency en Europa y MHLW Ministry of Health, Labour and Welfare en Japón) para proceder a la siguiente fase de estudio (Cuevas Pérez, Molina Gómez, & Fernández Ruiz, 2016).

1.3.3 Fase clínica

Es la etapa en la que se realizan estudios directamente en humanos con autorización de las autoridades regulatorias pertinentes, con la finalidad de garantizar la eficacia y seguridad de intervenciones terapéuticas con el fármaco en desarrollo.

Esta etapa comprende a su vez de cinco fases que serán descritas a continuación:

Fase I.- el fármaco es administrado por primera vez en humanos, en un grupo reducido de pacientes (menos de 100), voluntarios sanos, con el objetivo de detectar toxicidad, por lo general participan jóvenes de género masculino, esta fase dura entre 6-12 meses.

Fase II.- el fármaco es administrado por primera vez en pacientes enfermos entre 100-200, se dividen en dos grupos que al final serán comparados, al primero se aplica el fármaco y al otro un placebo o el mejor medicamento existente en el mercado para la patología a tratar, logrando de tal manera verificar la eficacia del fármaco, esta fase dura de 2 a 3 años.

Fase III.- el fármaco se aplica a una gran cantidad de pacientes (cientos o miles) con diversidad biológica, puntualiza principalmente perfiles de seguridad y eficacia, además de detectar manifestaciones de toxicidad, esta fase dura alrededor de 3-5 años.

Fase IV.- corresponde a la fase de farmacovigilancia una vez que el fármaco ya haya sido autorizado para la comercialización, buscan efectos adversos raros a largo plazo o con una frecuencia de 1 en 1000, además identifica efectos terapéuticos que no han sido identificados anteriormente (Arce-Vega, Ángeles-Llerenas, Villegas-Trejo, & Ramos, 2017) (Gallo E et al., 2017) (Carbonell, Milian, Julia, & López Puig, 2017).

1.3.4 Fase de aprobación y registro

En esta fase la agencia reguladora evalúa cada uno de los estudios realizados por el promotor del fármaco y analiza sus resultados de seguridad y eficacia para el uso que se ha propuesto y otorga un registro. Si el producto es aprobado se convierte en un medicamento innovador. Este procedimiento puede tardar de 9 meses hasta 2 o 3 años (Ponce, 2018).

1.3.5 Fase de desarrollo químico farmacéutico

En esta fase se deben validar una serie de procesos que están relacionados con la adecuada preparación del principio activo y del medicamento como producto terminado, se realizan estudios para caracterizar el medicamento y establece controles útiles y necesarios para garantizar su calidad. A todo este conjunto de procesos y estudios se denomina desarrollo químico farmacéutico o Chemistry, Manufacturing and Controls (CMC) (Saldívar-González, Prieto-Martínez, & Medina-Franco, 2017).

1.4 Modelos de evaluación de la actividad antiinflamatoria

Para estudiar la fase preclínica de un fármaco y evaluar su actividad antiinflamatoria es importante conocer los modelos de evaluación que se puede utilizar, a continuación, se detallan los modelos usados con más frecuencia.

1.4.1 Modelos de evaluación in vivo

Este tipo de modelo varía de acuerdo a la intensidad de reacción que provoca, para el estudio de antiinflamatorios se pueden usar agentes irritantes como bradicina, histamina o xileno que provocan una reacción inflamatoria de origen neurogénico y permiten un conocimiento más selectivo, además se usa fenilpropionato de etilo que permite estudiar antiinflamatorios con un periodo de latencia largo como en el caso de los corticosteroides (Ríos *et al.*, 2004).

1.4.1.1 Edema plantar por carragenina

Este método fue descubierto por Winter y Porter en el año 1957. Es el método mayormente utilizado en la actualidad para la evaluación de fármacos antiinflamatorios. Este método permite cuantificar de forma reproducible y sencilla los resultados obtenidos tras la administración subcutánea de carragenina (mucopolisacárido sulfatado proveniente de algas marinas *Chondrus crispus* y *Gigartina stellata*) en la aponeurosis plantar del ratón o rata. La respuesta de la carragenina es de tipo bifásica, la primera fase o fase temprana (0-1 hora) se caracteriza por la liberación de histamina, serotonina y citoquinas, la segunda fase o fase tardía (1-5 horas) se asocia a la liberación de prostaglandinas, bradiquininas, proteasa y lisosoma. El efecto máximo de la carragenina ocurre alrededor de las 2 a 3 horas luego de la inyección y es modulada por los inhibidores específicos en la cascada de la inflamación (Chakraborty *et al.*, 2004).

Con el tiempo el método de inhibición de edema plantar por carragenina ha llegado a cumplir un papel de vital importancia en el desarrollo de fármacos antiinflamatorios para el consumo humano y establecer correlaciones de dosis efectivas entre AINEs en este modelo y en pacientes (Giráldez, 2001).

1.4.1.2 Protocolo experimental por aceite de crotón

En este método se coloca aceite de crotón que posee propiedades irritantes en la piel del animal de experimentación, provoca una inflamación localizada en las orejas de los animales, se puede aplicar conjuntamente con el colorante azul de Evans para determinar la permeabilidad de la sustancia a evaluar (Gómez Estrada, González Ruiz, & Domingo MEDINA, 2011).

1.4.1.3 Edema auricular en ratón inducido por TPA (acetato de tetradecanoil forbol)

El TPA tiene propiedades irritantes pro-inflamatorias y promotora de tumores, permite el desenlace de las características propias de la inflamación como vasodilatación, eritema, extravasación y edema, a nivel histológico produce agregación plaquetaria, agregación y adherencia de neutrófilos y eosinófilos, degranulación de mastocitos y engrosamiento de la epidermis. A nivel bioquímico se elevan el AMPc y las prostaglandinas (Mañé Almero, 2007).

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1 Lugar de la investigación

La presente investigación se llevó a cabo en el Bioterio de la Facultad de Ciencias de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH).

2.2 Tipo y diseño de la investigación

La investigación desarrollada para evaluar la actividad antiinflamatoria de ECOXIB® BLISPACK es de nivel aplicativo, aplicando un diseño experimental de bloques aleatorios, manejando pruebas paramétricas y de normalidad.

2.3 Unidad de análisis

La unidad de análisis utilizada en la investigación es el medicamento ECOXIB®BLISPACK desarrollado por la industria farmacéutica GINSBERG ECUADOR S.A en su nueva presentación.

2.4 Población y muestra de estudio

En el estudio para la determinación de la actividad antiinflamatoria se utilizaron ratas *Wistar* del Bioterio de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, a las cuales se indujo inflamación por medio de una solución de carragenina y posteriormente se administró el tratamiento en estudio (ETORICOXIB), medicamento de referencia (Dynastat®) y blanco (vehículo de ECOXIB) y finalmente se controló el volumen del edema a diferentes tiempos.

2.5 Tamaño de la muestra

En la investigación se utilizó un total de doce animales de experimentación (Ratas *Wistar*), separadas en cuatro bloques, cada bloque conformado por tres unidades de experimentación.

Para la selección del número de animales se aplicó la bioética en animales de experimentación, usar el mínimo de animales necesarios para obtener una significancia estadística y poder alcanzar resultados válidos, confiables, reproducibles y comparables.

2.6 Selección de la muestra

Las unidades de análisis para la evaluación antiinflamatoria deben estar en condiciones saludables, son ratas albinas hembras (*Rattus norvegicus*), son las más utilizadas para investigaciones.

Según Olivares G. La edad debe estar comprendida entre dos y tres meses y su peso entre 200 y 250 g, con un periodo de ambientación previo mínimo de 20 días.

2.7 Materiales, equipos y reactivos para la determinación de la actividad antiinflamatoria.

2.7.1 *Materia prima*

La materia prima usada fue el medicamento, ECOXIB®BLISPACK medicamento diseñado por la industria farmacéutica GINSBERG ECUADOR S.A, utilizado principalmente para el tratamiento sintomático de osteoartritis, artritis reumatoide, dolor e inflamación en artritis gotosa aguda, alivio del dolor lumbar, tratamiento de dolor agudo postoperatorio moderado a severo asociado a cirugía dental y abdominal ginecológica.

2.7.1.1 *Área descriptiva del medicamento*

- ✓ **Denominación común internacional:** Etoricoxib
- ✓ **Grupo terapéutico:** M01AH. Antiinflamatorios y Antirreumáticos. Perteneciente a Antiinflamatorios no esteroideos.
- ✓ **Nombre comercial:** ECOXIB® BLISPACK.
- ✓ **Concentración:** 90mg/mL
- ✓ **Presentaciones solicitadas:** Jeringa prellenada por 1 mL.
- ✓ **Administración:** vía intramuscular

- ✓ **Laboratorio Fabricante:** Laboratorio Ginsberg Ecuador S.A

- ✓ **Mecanismo de acción:** Etoricoxib tiene propiedades analgésicas y antiinflamatorias, actúa inhibiendo la síntesis inducida de prostaglandinas, a través de la prostaglandina ciclooxigenasa 2 (COX-2), inhibidor selectivo de la COX-2.

2.7.2 *Reactivos biológicos*

Para el trabajo de investigación en la determinación de la actividad antiinflamatoria de ECOXIB®BLISPACK se usó como reactivo biológico a un número determinado de ratas albinas (*Rattus norvegicus*), según la Organización Panamericana de la Salud en el año 1980 expresó que “los países que han logrado un avance en el control de enfermedades humanas y animales son los que cuentan con entidades dedicadas al desarrollo de la Ciencia de los Animales de Laboratorio” (Barassi *et al.*, 1996 pp 531-532). Permitiendo de tal manera el uso de animales de experimentación en la evaluación de la actividad antiinflamatoria de ECOXIB®BLISPACK

“Los Principios de Técnicas de Experimentación Humanitarias”, referidas por W.M. Russel y R.L. Burch buscan mantener y utilizar de forma digna y en condiciones óptimas a los animales de experimentación, estableciendo de tal manera la utilización de las tres R:

- 1) **Reemplazar.-** sustituir a los animales utilizados en el laboratorio por equivalentes no animales.
- 2) **Reducir.-** reducir a lo posible el número de animales de experimentación.
- 3) **Refinar.-** término referido a todos los procedimientos utilizados en los animales de experimentación y lo que pretende es minimizar el sufrimiento o la ansiedad provocados en los mismos (Capó, 2005 p29).

En la investigación se aplicó dos de las técnicas antes mencionadas para experimentar en animales de laboratorio; reducción del número de animales de experimentación y refinamiento de los procedimientos usados para no provocar sufrimiento en los mismos.

2.7.2.1 *Descripción de los animales de experimentación*

- Peso promedio: 200 – 250 g
- Edad: entre 2-3 meses
- Sexo: hembras

- Lugar de nacimiento: Bioterio de la ESPOCH

2.7.2.2 *Condiciones ambientales*

- Temperatura: $25\pm 2^{\circ}\text{C}$
- Humedad relativa: $45\pm 5\%$
- Fotoperiodo: 12 horas luz – 12 horas oscuridad
- Alimentación: *ad libitum*
- Cama: tamo de arroz previamente esterilizado con cambio cada 48 horas
- Tiempo de ambientación: 20 días

2.7.3 *Equipos*

Balanza analítica Radwag S220.R2

Pie de rey o calibrador digital (resolución = 0.1mm)

2.7.4 *Materiales*

Tubos de vidrio

Agitador

Jeriga 1mL

Jeringa 5mL

Algodón

Filtro 0,45 μm

Cinta métrica

Guantes desechables

Mascarilla

Zapatones

Papel milimetrado

Papel filtro

Papel aluminio

Temperas

Pincel

Vaso de precipitación

Soporte universal

Pinzas

Espátula

Regla

Frascos estériles

Cronómetro

2.7.5 Reactivos

Carragenina al 1%

Solución salina isotónica (NaCl al 0,9 %)

Parecoxib®: medicamento de administración intramuscular, inhibidor selectivo de la COX-2, elaborado por la industria farmacéutica Pfizer.

Ecoxib®Blispack

Suero fisiológico

Agua destilada

Alcohol antiséptico

2.8 Métodos y técnicas

2.8.1 Método de inducción de edema plantar con carragenina

Fundamento:

El fundamento de esta técnica se basa principalmente en la administración subcutánea de una solución de carragenina al 1% en la aponeurosis plantar de la pata derecha de la rata, lo que desencadena una reacción inflamatoria, puesto que la carragenina estimula la síntesis de prostaglandinas mediante el metabolismo del ácido araquidónico. Dicha reacción inflamatoria va a ser evidente en la unidad de experimentación con el apareamiento del edema plantar, mismo que desaparecerá si el medicamento en cuestión tiene actividad antiinflamatoria (Winter et al, 1962).

Procedimiento:

Se preparó la solución de carragenina al 1% con solución salina isotónica al 0.9 %, luego se filtró mediante una membrana de acetato de celulosa de 0.45 µm de diámetro, en la jeringa de 1 mL se precargó 0.1 mL de solución de carragenina, una vez que se ha inmovilizado al animal de experimentación se procedió a desinfectar la zona de punción y posteriormente se aplicó la carragenina en la aponeurosis plantar de la pata derecha de la rata, tras la administración se

esperó un lapso de dos horas hasta el efecto máximo de la carragenina y así obtener una inflamación evidente.

2.8.2 Evaluación de la actividad antiinflamatoria

Para la evaluación de la actividad antiinflamatoria de Ecoxib®Blispack intramuscular se eligió el método de edema plantar inducido por carragenina que provoca una reacción de carácter inflamatorio y libera diversos autacoides como, histamina, serotonina, bradicina, prostaglandinas, además diversos factores del complemento.

Se prefiere la carragenina ante otros irritantes porque el edema producido está menos modificado por factores ajenos a los propiamente característicos de la inflamación.

Se utilizaron ratas hembras con un peso de entre 200 y 250 g de entre dos y tres meses de edad del Bioterio de la ESPOCH, se mantuvo a los animales bajo condiciones ambientales estándar con una alimentación balanceada, cabe recalcar que los animales que iban a ser tratados debían estar con 12 horas de ayuno con agua *ad libitum*.

Se utilizaron 12 ratas, dividiéndolas en 4 bloques de acuerdo al peso, distribuyendo 4 animales para cada tratamiento (vehículo o control, ECOXIB®BLISPACK, Dynastat®). Las mediciones se realizaron una vez al día, en las cuales a su vez se controló el tiempo.

Se pesó a cada animal de experimentación y se colocaron en jaulas individuales y distribuidas aleatoriamente en bloques para cada tratamiento; ECOXIB®BLISPACK, Dynastat®). Como medicamento de referencia y vehículo usado como control o blanco, fueron administrados dos horas después de la administración de carragenina en una dosis única.

Con la ayuda de una cinta métrica y calibrador o pie de rey se midieron los volúmenes normales de la pata derecha posterior de las ratas; se indujo el edema inyectando 0,1 mL de suspensión al 1% de carragenina en solución salina al 0.9% en la aponeurosis plantar derecha de las ratas, la inflamación se cuantificó midiendo el volumen de las patas a las 0,5 y 2 horas después de la inducción de la inflamación (Iziara F. Florentino, *et al.*, 2017)

La diferencia de volumen entre la pata derecha inflamada y la misma pata derecha normal antes de la inyección de carragenina es indicativo del grado de inflamación. Los tratamientos a estudiar y el vehículo (control) sin adicionar ningún principio activo se administraron por vía intramuscular a las siguientes dosis: 10 mg/kg de ECOXIB®BLISPACK y 4 mg/kg del medicamento de referencia Dynastat® 40 mg (parecoxib).

En cada una de las repeticiones de los tratamientos se midió la diferencia de volumen a diferentes horas, y se comparó la efectividad de cada uno de los tratamientos aplicados.

2.8.3 *Periodo de ambientación*

En esta etapa los animales de experimentación fueron expuestos a las mismas condiciones de alimentación y ambientales en cada una de las jaulas, esta fase tuvo una duración de tres semanas.

- Ciclo de luz: 12 horas/12 horas
- Agua y comida: balanceado; 5 g por cada 100 g de peso y 500 – 600 mL de agua tratada cada día.
- Temperatura relativa: $23^{\circ}\text{C} \pm 2$
- Humedad relativa: 45 ± 5 %
- Cama: tamo de arroz esterilizado con cambio cada 48 horas

Cabe indicar que en esta etapa hubo relación entre investigador y animal de experimentación para que se adapten el uno al otro, para que en lo posterior no existan niveles de estrés por parte de la unidad de experimentación y se minimicen los errores.

2.8.4 *Modelo experimental*

En esta etapa de la investigación los animales de experimentación participan en el diseño experimental.

En el siguiente cuadro se muestran los tratamientos usados y su distribución por bloques y el número de animales de experimentación utilizados en la investigación para evaluar la actividad antiinflamatoria de ECOXIB®BLISPACK.

Tabla 1-2: Diseño del modelo experimental para la evaluación de la actividad antiinflamatoria de ECOXIB®BLISPACK.

		TRATAMIENTOS		
		T1	T2	T3
BLOQUES	BLOQUE 1	R1	R5	R9
	BLOQUE 2	R2	R6	R10
	BLOQUE 3	R3	R7	R11
	BLOQUE 4	R4	R8	R12

Realizado por: Joselyn Pilco L., 2018

Donde:

T1= Edema plantar + vehículo, control o blanco

T2= Edema plantar + ECOXIB® BLISPACK. 90 mg/mL medicamento en estudio en dosis 10 mg/Kg

T3= Edema plantar + Dynastat® Parecoxib 40 mg/mL medicamento de referencia en dosis 4 mg/Kg

R# = código alfanumérico de los animales de experimentación

Condiciones de los animales:

Cada uno de los bloques debe estar conformados por animales de experimentación de pesos similares y con 12 horas de ayuno sin quitar el agua.

A continuación, se realizan esquemas detallando el protocolo seguido para la evaluación de la actividad antiinflamatoria de ECOXIB® BLISPACK

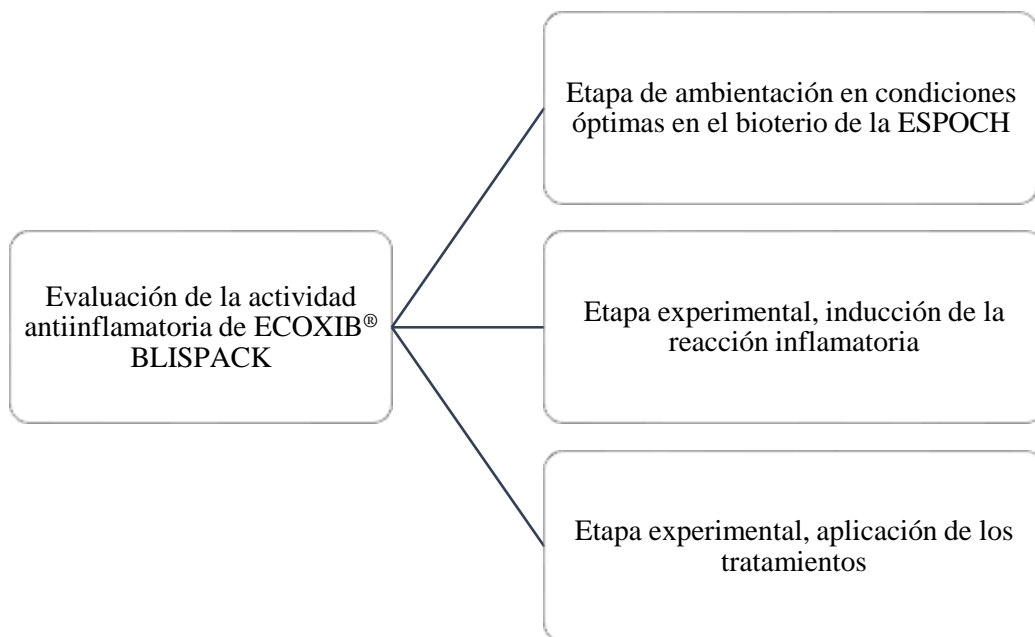


Figura 1-2: esquema de la evaluación de la actividad antiinflamatoria

Realizado por: Joselyn Pilco L., 2018.

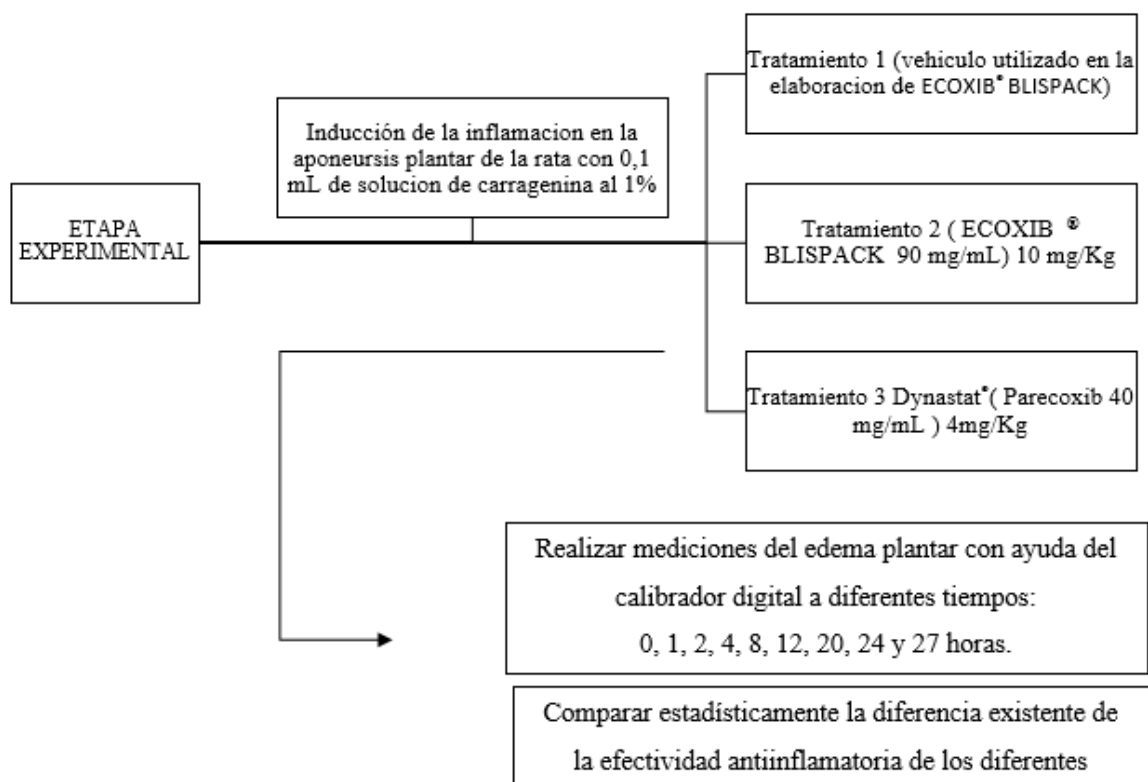


Figura 2-2: Esquema de la etapa experimental en la evaluación de la actividad antiinflamatoria de ECOXIB® BLISPACK

Realizado por: Joselyn Pilco L., 2018

2.8.5 Valoración del efecto antiinflamatorio

La medición del tamaño de la pata o del edema plantar se realizó mediante el uso de un calibrador digital, mismo que es un instrumento de medición que permite comprobar las variaciones de distancia entre dos superficies simétricas entre sí. Dichas variaciones van a ser registradas en mm de diámetro.

Se realizaron nueve mediciones, de los anchos de la pata, la primera corresponde a la pata del animal de experimentación previo a la inyección suplantar de carragenina, continuando con la medición a las 0, 1, 2, 4, 8, 12, 20, 24 y 27 horas después de la administración de los tratamientos.



Figura 3-2: calibrador digital usado para la obtención de las medidas del edema suplantar.

2.8.6 Análisis estadístico

El análisis estadístico en esta investigación se realizó con la ayuda del programa estadístico SPSS versión 22, en el que se aplicó el test ANOVA de un factor para determinar si existe diferencia significativa entre los tratamientos administrados, se trabajó con una probabilidad de $p < 0,05$.

Para comprobar si la diferencia de medias se aplicó el Test de Tukey, que además identifica la existencia de variación en los resultados.

2.8.7 *Planteamiento de la hipótesis*

H₀: no existe diferencia significativa en cada uno de los tratamientos administrados a las unidades experimentales luego de la inducción de la inflamación tras la administración de carragenina en la aponeurosis plantar. $p \geq 0,05$

H₁: si existe diferencia significativa por lo menos en uno de los tratamientos administrados a las unidades experimentales tras la inducción de la inflamación por medio de la administración de carragenina en la aponeurosis plantar. $p < 0,05$ mediante

Mediante el análisis comparativo entre los tratamientos si se acepta la hipótesis nula (H₀) se concluye que no existe diferencia significativa entre los mismos, por el contrario, si se rechaza la hipótesis nula (H₀) y se acepta la hipótesis alternativa (H₁) quiere decir que si existe al menos un tratamiento administrado que es diferente, por lo que se procede a aplicar el test de Tukey para determinar si la diferencia es significativa.

CAPÍTULO III

3. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.1 Inducción de la inflamación con carragenina

Se aplicó el modelo de inflamación aguda subplantar utilizando una solución de carragenina al 1%, este compuesto es ampliamente usado para la evaluación de fármacos o extractos que tienen potencial antiinflamatorio. Para evaluar en tamaño del edema plantar se realizó dos medidas de la pata inflamada en el animal de experimentación como se muestran en las figuras. Observándose un incremento evidente del tamaño de la para inyectada con carragenina a partir de la primera hora de la inyección alcanzando su máximo nivel de inflamación a las 2 horas.



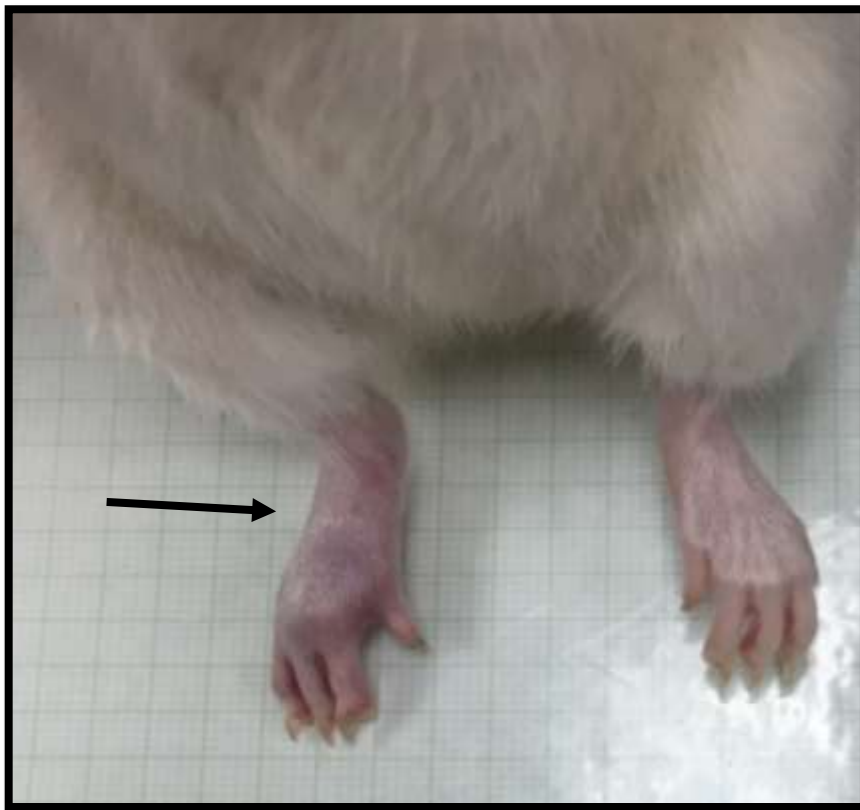
Fotografía 1-3: Ancho 1, medida del edema plantar inducido por carragenina.

Realizado por: Joselyn Pilco L., 2018.



Fotografía 2-3: Ancho 2, medido del edema plantar inducido por carragenina.

Realizado por: Joselyn Pilco L., 2018.



Fotografía 3-3: Pata de la rata inyectada con carragenina a las 2 horas de seguimiento sin administrar ningún tratamiento.

Realizado por: Joselyn Pilco L., 2018

La búsqueda de nuevos principios activos y nuevas formas farmacéuticas de medicamentos antiinflamatorios por parte de la industria farmacéutica, se ha centrado en el estudio de modelos tanto *in vitro* como *in vivo* para mostrar su efectividad y seguridad (Bruce y Oehme 1979) (Giráldez, 2001). Las técnicas usadas *in vivo* deben ser de duración corta, sencillas, no implica un elevado costo, gasto mínimo del producto y se utiliza roedores habituales de experimentación animal; rata o ratón (Giráldez, 2001).

En la actualidad, los modelos *in vivo* son ensayos muy valiosos, complejos y sobre todo completos en la investigación de nuevas estrategias en distintas terapias, los modelos de inflamación aguda tienen la ventaja de ser fácilmente reproducibles en un menor tiempo, conlleva una realización y determinación de resultados simples y presenta un corto lapso de tiempo entre inducción y manifestación de la inflamación. Entre otros modelos que podemos mencionar se encuentra el modelo de inducción de inflamación en la oreja del animal de experimentación con sustancias como dextrán que se caracteriza por la liberación de histamina y serotonina (López, 2004).

Se trabaja con carragenina puesto que es la sustancia que genera edema independiente de factores propios de la inflamación. En diferentes estudios realizados usando carragenina para inducción de la inflamación, muestran que el máximo nivel de edema se presentó entre las 2 y 4 horas luego de la administración (Fossati, 1999) (García y Cool, 2000). En el estudio presente la mayor inflamación se registró a las dos horas posteriores a la administración, lo que nos permite decir que los resultados obtenidos son análogos a los de otros autores.

3.2 Evaluación del efecto antiinflamatorio en el edema plantar.

La evaluación de la actividad antiinflamatoria se realizó mediante el método de inhibición de edema plantar inducido por carragenina, las mediciones se realizaron con ayuda de un calibrador o pie de rey y una cinta métrica, los resultados obtenidos antes y después de la administración de los tratamientos previa inducción de la inflamación de muestran a continuación.

Tabla 1-3: Media de resultados de la disminución de la inflamación en mm por acción de cada tratamiento a diferentes tiempos y error correspondiente a cada tiempo.

	27 horas	24 horas	20 horas	12 horas	8 horas	4 horas	2 horas	1 hora
(T1) VEHÍCULO	0,93± 0,073	0,95± 0,042	0,95± 0,052	0,95± 0,049	0,95± 0,061	0,93± 0,047	0,93± 0,033	0,93± 0,029
(T2) ECOXIB®BLISPACK	0,48± 0,074	1,45± 0,043	1,30± 0,051	1,18± 0,049	1,13±0,062	1,05± 0,046	1,03±0,035	1,00± 0,03
(T3) Dynastat® Parecoxib	0,48± 0,074	1,43± 0,043	1,28± 0,052	1,18± 0,048	1,18±0,064	1,10± 0,046	0,98± 0,035	1,00± 0,028
ERROR ESTÁNDAR	0,075	0,043	0,052	0,049	0,063	0,046	0,034	0,028

Realizado por: Joselyn Pilco L., 2018

Tabla 2-3: Representación de la igualdad o desigualdad en la actividad antiinflamatoria de los tres tratamientos administrados a diferentes tiempos

	27 horas		24 horas		20 horas		12 horas		8 horas		4 horas		2 horas		1 hora	
<i>(T1)</i>																
VEHÍCULO	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
	0,93	a	0,95	a	0,95	a	0,95	a	0,95	a	0,93	a	0,93	a	0,93	a
<i>(T2)</i>																
ECOXIB®BLISPAC K	0,48	b	1,45	b	1,30	b	1,18	b	1,13	a	1,05	a	1,03	a	1,00	a
<i>(T3)</i>																
Dynastat® Parecoxib	0,48	b	1,43	b	1,28	b	1,18	b	1,18	a	1,10	a	0,98	a	1,00	a

Realizado por: Joselyn Pilco L., 2018

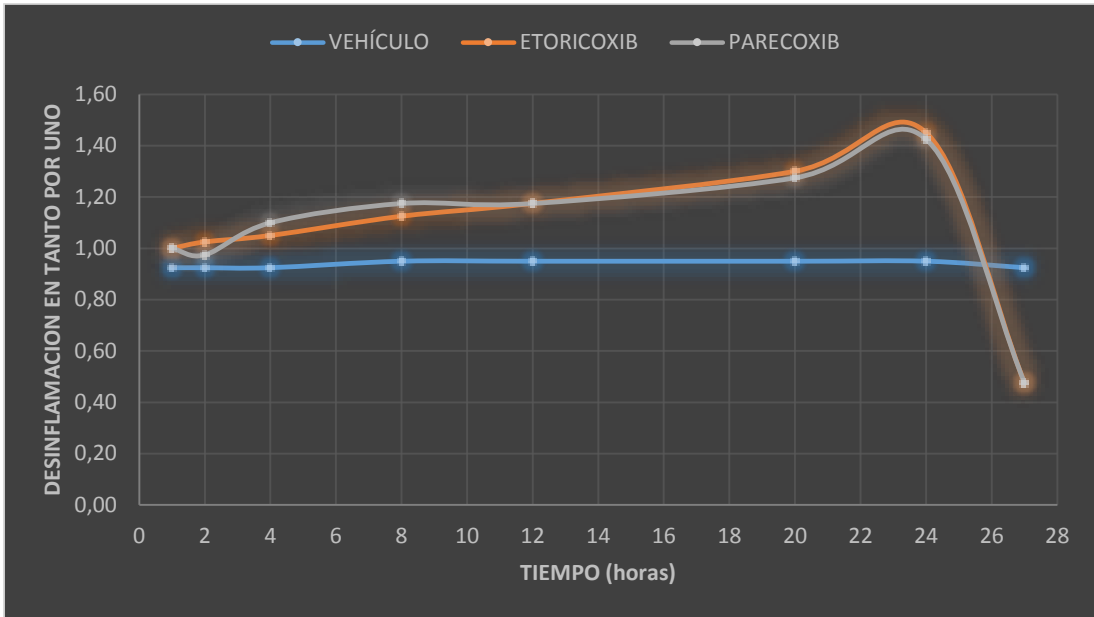


Gráfico 1-3: Representación gráfica del paralelismo correspondiente a la acción antiinflamatoria a diferentes tiempos de los tratamientos administrados.

Realizado por: Joselyn Pilco L., 2018

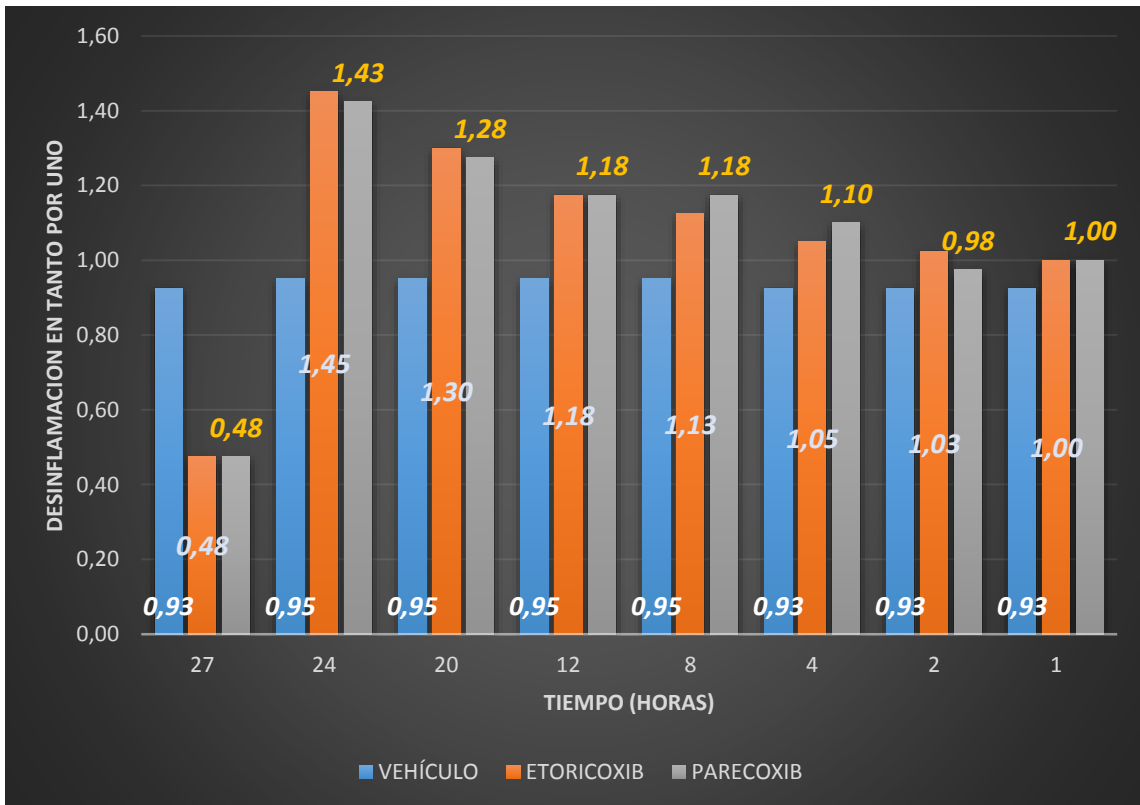


Gráfico 2-3: Representación gráfica de la acción antiinflamatoria a diferentes tiempos por acción cada uno de los tres tratamientos administrados.

Realizado por: Joselyn Pilco L., 2018

En la **tabla 1-3**, en el tratamiento uno correspondiente al vehículo usado en la formulación de ECOXIB®BLISPACK, se puede estimar que el volumen de inflamación permanece constante desde $t=1$ hora, hasta $t=27$ horas sin existir diferencia del edema subplantar al pasar el tiempo. En el caso del tratamiento dos y tratamiento tres correspondiente a ECOXIB®BLISPACK y Dynastat® (Parecoxib) respectivamente se puede apreciar que el volumen del edema subplantar disminuye significativamente en igual proporción a partir de las 12 horas después de haber administrado el tratamiento, hasta su total desinflamación a las 27 horas, llegando a un volumen normal de la pata del animal de experimentación, por lo tanto los tratamientos dos y tres indican disminución estadísticamente significativa en el volumen de la pata observándose una diferencia con respecto al blanco (tratamiento 1) el cual no tuvo disminución como se puede apreciar en la **tabla 2-3**.

Los resultados emanados fueron analizados estadísticamente con la aplicación de un test ANOVA de un factor con ayuda del programa SPSS 23, en primera instancia, para verificar si existe diferencia significativa entre la disminución del volumen de inflamación administrando ECOXIB®BLISPACK de administración intramuscular y el medicamento de referencia dynastat® (Parecoxib) de administración intramuscular.

En primer lugar, se verificó que los datos obtenidos cumplan con los dos requisitos fundamentales para la aplicación de una estadística paramétrica es decir deben cumplir con una distribución normal de los datos (**Gráfico 1-B**) y una homogeneidad de varianzas (**Gráfico 2-B**), utilizando el test de Kolmogorov- Smirnov y Levene respectivamente, se trabajó con un nivel de confianza del 95%.

Se procedió al análisis de los datos mediante el test ANOVA de un factor como se puede apreciar en el **Gráfico 3-B**, para determinar si existe diferencia significativa en el volumen de desinflamación del edema plantar por acción de los tratamientos aplicados, se obtuvo un nivel de significancia igual a 0,013 por lo que se procede a rechazar la hipótesis nula (H_0), es decir que al menos uno de los tratamientos aplicados es distinto.

Seguidamente se analizaron los datos obtenidos aplicando el test de Tukey para la comparación de medias entre los tratamientos como se observa en el Gráfico 4-B, comprobando de tal manera que al tiempo 20 horas uno de los tratamientos es significativamente diferente.

Además, se determinó que dos de los tratamientos (T2 y T3) usados para la inhibición del edema plantar, desempeñan su efecto al mismo tiempo, es decir; entre ellos no existe diferencia significativa en el tiempo de acción antiinflamatoria. Esto se puede apreciar en el **Gráfico 1-3**.

La enzima ciclooxigenasa 2 es muy importante, ya que se encuentra habitualmente en las células y tejidos renal y cerebral, y puede intervenir en procesos patológicos como inflamación crónica y cáncer, en estudios realizados se ha comprobado que la COX-2 es capaz de causar proliferación tumoral, carcinogénesis, angiogénesis, entre otras. Cuando existe en mucha cantidad es probable que se relacione con el desarrollo desfavorable de varios tipos de cáncer (Dai *et al.*, 2012).

Por lo anteriormente mencionado, la COX-2 se ha convertido en un blanco importante para estudio, puesto que existe una gran relación entre procesos metastásicos de cualquier tipo, angiogénesis y su inhibición. En la actualidad se busca suprimir la sobreexposición de esta enzima empleando inhibidores selectivos de la COX-2, dentro de los cuales se encuentran celecoxib, etoricoxib, parecoxib (Peng *et al.*, 2013).

Por otra parte, el consumo de administración oral por periodos prolongados y en dosis altas de estos fármacos causaría efectos negativos como infiltración mononuclear, pérdida de algunas funciones hepáticas, degeneración renal y complicaciones gástricas, por lo que la vía de administración juega un papel muy importante en el proceso de inhibición de la COX-2, (Kockaya *et al.*, 2010) por lo tanto, en esta investigación se evaluó el fármaco ECOXIB®BLISPACK de administración intramuscular, el cual presenta acción similar a PARECOXIB también de administración intramuscular ya presente en el mercado, ambos pertenecientes a los COXIB inhibidores selectivos de la COX-2.

En estudios *in vivo* con animales de experimentación la actividad farmacológica del principio activo ETORICOXIB de administración oral frente a otros AINEt como en el caso del diclofenaco intramuscular de 75 mg, no existe diferencia significativa en cuanto a la reducción del edema plantar inducido por carragenina, ambos tratamientos administrados fueron igual de efectivos, los medicamentos de administración intramuscular son más efectivos para el control del dolor, en el presente estudio se observó que el medicamento diclofenaco de administración intramuscular disminuyó de manera significativa a los 30 minutos tras su administración la puntuación de dolor en los animales de experimentación (Rico Plantón, 2016).

En este estudio los grupos tratados con ECOXIB®BLISPACK y PARECOXIB al compararlos con el blanco mostraron diferencia significativa en el tiempo y volumen de desinflamación, lo

que indica que a las dosis administradas los dos tratamientos T2 y T3 tiene el mismo efecto antiinflamatorio. Por lo que, se instituye que ECOXIB®BLISPACK y PARECOXIB, ambos inhibidores selectivos de la COX-2 cumplen su acción para la que fueron diseñados, sin presentar efecto negativo evidente durante el tiempo de estudio.

CONCLUSIONES

- Se logró la activación de mediadores inflamatorios en la unidad experimental por medio de la inyección subcutánea de una solución de carragenina en la aponeurosis subplantar derecha de la rata, dando como resultado un edema mismo que fue tratado con los tratamientos estudiados.
- Se demostró que ECOXIB® BLISPACK a la dosis de 10 mg/kg inició la disminución del edema plantar a la hora 8 después de su administración, al mismo tiempo el medicamento de referencia Parecoxib con una dosis de administración de 4 mg/kg, mientras que el vehículo usado en la formulación de ECOXIB no presenta disminución del edema plantar en la unidad experimental.
- Bajo las mismas condiciones experimentales, modelo animal usado y vía de administración, se determinó que ECOXIB®BLISPACK y Dynastat® (Parecoxib) estadísticamente realizan su actividad antiinflamatoria a tiempos similares, es decir no existe diferencia significativa respecto a su actividad antiinflamatoria.
- Se concluye que el medicamento ECOXIB®BLISPACK posee una actividad antiinflamatoria significativa, y durante el estudio se evidenció que la forma farmacéutica no afecta a la acción terapéutica para la que Etoricoxib fue diseñada; a su vez se puede manifestar que no se presentó reacciones adversas al medicamento, pero no se descarta la presencia de efectos colaterales con el uso frecuente del mismo.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar un estudio de la biodisponibilidad de ECOXIB®BLISPACK.
- Se recomienda realizar estudios *in vitro* de ECOXIB®BLISPACK y comparar su actividad antiinflamatoria, con respecto a un medicamento perteneciente al mismo grupo terapéutico.
- Se recomienda realizar estudios de toxicidad del medicamento ECOXIB®BLISPACK., con el fin de evitar reacciones negativas asociadas al medicamento en pacientes.
- Se recomienda que la escuela de Bioquímica y Farmacia de la ESPOCH realice convenios con empresas farmacéuticas para que los estudiantes tengan la oportunidad de tener experiencia en el ámbito laboral y científico.

BIBLIOGRAFÍA

Arce-vega, R., Ángeles-Ilerenas, A., Villegas-Trejo, A. & Ramos, C., Adherence to treatment of Chagas disease. *Revista Biomédica*, 2017. Vol. 28, no. 1, pp. 25-37.

Barrientos, A., et.al. Empleo de antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) como coadyuvante en el tratamiento de la enfermedad periodontal. *Acta Odontológica Venezolana*, 2009. Vol. 47, no. 1, pp. 249-258. ISSN 0001-6365.

Berrón-Pérez, R., et.al. El sistema del complemento. Vías clásica y de la lectina que se une a la manosa. , 2003. Vol. 12, pp. 8.

Bonmatí, L.M., Moreno, E.F. & Garmendia, F.S., *Formación, futuro y código de conducta en radiología*. S.l.: Ed. Médica Panamericana. 2004. ISBN 978-84-7903-930-1.

Bovill, N. & Calixto, J., Estudios de estabilidad de medicamentos bajo normativa BPL y GMP. , 2016. DOI <http://hdl.handle.net/10810/18021>.

Caelles, A.C.. Carne Caelles - Junio 2017: La inflamación, primera línea de defensa o caballo de Troya.

Carbonell, L.A., Milian, G., Julia, A. & López Puig, P., La perspectiva del paciente del ensayo clínico. *Revista Cubana de Salud Pública*, 2017. Vol. 43, pp. 373-395. ISSN 0864-3466, 0864-3466, 1561-3127.

Casal, M.J.V.J. ramon, Abordaje del dolor musculoesquelético en urgencias. , 2011. pp. 7.

Cuevas Pérez, O., Molina Gómez, A. & Fernández Ruiz, D., Los ensayos clínicos y su impacto en la sociedad. *MediSur*, 2016. Vol. 14, no. 1, pp. 13-21. ISSN 1727-897X.

Duce, A.M., *Patología quirúrgica*. S.l.: Elsevier España. 2004. ISBN 978-84-8174-739-3.

Ecured, Inflamación - EcuRed. Efectos secundarios de los antiinflamatorios no esteroideos a nivel gastrointestinal, renal y cardiovascular en pacientes con artritis reumatoide II. , 2007. pp. 6.

Fernández, P.L., Velázquez. *Farmacología Básica y Clínica (eBook online)*. S.l.: Ed. Médica Panamericana. 2015. ISBN 978-84-9835-481-2.

Flórez, J., Esteroides corticales y antiinflamatorios esteroideos. *Farmacología humana, 2014*, ISBN 978-84-458-2316-3, págs. 824-836. S.l.: Elsevier, pp. 824-836. ISBN 978-84-458-2316-3.

De La Fuente. Fisiopatología Inflamación. 2004.*calameo.com*.

Gallo E, S., et.al. Current treatment and new therapies against chronic hepatitis B virus infection. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 2017. Vol. 32, no. 2, pp. 131-140. ISSN 0120-9957. DOI 10.22516/25007440.138.

García De Lorenzo, A., López Martínez, J. & Sánchez Castilla, M., Respuesta inflamatoria sistémica: definiciones, marcadores inflamatorios y posibilidades terapéuticas. *Medicina Intensiva*, 2000. Vol. 24, no. 8, pp. 361-370. ISSN 0210-5691. DOI 10.1016/S0210-5691(00)79623-9.

Gómez Estrada, H.A., González Ruiz, K.N. & Domingo Medina, J., Actividad Antiinflamatoria de Productos Naturales. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 2011. Vol. 10, no. 3. ISSN 0717-7917.

Kirchner, A.E.L., *Desarrollo de Nuevos Productos: Una Vision Integral*. S.l.: Cengage Learning Editores. 2010. ISBN 978-607-481-320-3.

Lim, Y.J. & Yang, C.-H., Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug-Induced Enteropathy. *Clinical Endoscopy*, 2012. Vol. 45, no. 2, pp. 138-144. ISSN 2234-2400. DOI 10.5946/ce.2012.45.2.138.

Mañé Almero, J., Modelos experimentales in vivo de enfermedad inflamatoria intestinal y cáncer colorrectal: Conceptos, modelos actuales y aplicabilidad. *Nutrición Hospitalaria*, 2007. Vol. 22, no. 2, pp. 178-189. ISSN 0212-1611.

Marinovic, M.A., Inflamación, daño y reparación en enfermedades reumáticas. *Medwave*, 2008. Vol. 8, no. 06. ISSN 0717-6384. DOI 10.5867/medwave.2008.06.502.

Mejjide, G., A. J., Carnota, G.-R. & J. J., Fisiopatología de la ciclooxigenasa-1 y ciclooxigenasa-2. *Revista Española de Reumatología*, 2000. Vol. Vol. 27., no. Núm. 1, pp. 33-35. ISSN 0304-4815.

Mitchell, R.N., et.al. Compendio de Robbins y Cotran. Patología estructural y funcional. S.l.: Elsevier España. 2012. ISBN 978-84-8174-502-3.

Montes, J.A.R. & Fraguas, F.N., Patología quirúrgica general. S.l.: Editorial Universitaria Ramon Areces. 2012. ISBN 978-84-9961-063-4.

Muñoz, R.R., Tipos de inflamación. 2013.

Octavio Amancio, Prostaglandinas y Dolor - Artículos - IntraMed. , 2002.

Patrono, C., Patrignani, P. & Rodríguez, L.A.G., Cyclooxygenase-selective inhibition of prostanoid formation: transducing biochemical selectivity into clinical read-outs. *The Journal of Clinical Investigation*, 2001. Vol. 108, no. 1, pp. 7-13. ISSN 0021-9738. DOI 10.1172/JCI13418.

Pérez, D.A.O. & Gámez, D.V.S., Biosíntesis de los productos del ácido araquidónico y su repercusión sobre la inflamación. , 1998. pp. 6.

Ponce, M.F. Industria Farmacéutica, Dinero y Salud Pública: ¿Existe la obligación de decir la verdad (parresia) en un contexto de libertad de expresión? (Big Pharma, Money, and Public Health: Is Truth-Telling (Parrhesia) a Duty in a Context of Freedom of Speech?). 2018. SSRN Scholarly Paper. Rochester, NY: Social Science Research Network. ID 3145098.

Regal, M.L., Et.Al. , Respuesta inflamatoria aguda. Consideraciones bioquímicas y celulares: cifras alarmantes. *Revista Finlay*, 2015. Vol. 5, no. 1, pp. 47-62. ISSN 2221-2434.

Ricci, E. Di., Eduardo Di Ricci: La Respuesta Inflamatoria Quinto Signo. noviembre 2014. S.l.: s.n.

- Rico Plantón, J.M.**, Revisión sistemática de pautas analgésicas para el postoperatorio en cirugías de pie y tobillo. *Revista Española de Podología*, 2016. Vol. 27, no. 1, pp. 18-26. ISSN 0210-1238. DOI 10.1016/j.repod.2016.05.004.
- Sáez-Jiménez, R.**, esteroides por vía intramuscular para el tratamiento de la lumbalgia aguda en las consultas de Atención. , 2011. pp. 7.
- Saldívar-González, F., Prieto-Martínez, F.D. & Medina-Franco, J.L.**, Descubrimiento y desarrollo de fármacos: un enfoque computacional. *Educación Química*, 2017. Vol. 28, no. 1, pp. 51-58. ISSN 0187-893X. DOI 10.1016/j.eq.2016.06.002.
- Serra, H.A., Roganovich, J.M. & Rizzo, L.F.L.**, Glucocorticoides: paradigma de medicina traslacional. De lo molecular al uso clínico. *Medicina (Buenos Aires)*, 2012. Vol. 72, no. 2, pp. 158-170. ISSN 0025-7680.
- Sharma, P., Kaur, J. & Sanyal, S.N.**, Effect of etoricoxib, a cyclooxygenase-2 selective inhibitor on aberrant crypt formation and apoptosis in 1,2 dimethyl hydrazine induced colon carcinogenesis in rat model. *Nutrición Hospitalaria*, 2010. Vol. 25, no. 1. ISSN 0212-1611.
- Stanier, R.Y.**, Microbiología. S.l.: Reverte. 1996. ISBN 978-84-291-1868-1.
- Toledo Yupanqui, C.L.**, INFLAMACION: MEDIADORES QUIMICOS. *Revista de Actualización Clínica Investiga*, 2014. pp. 2266.
- Villalba Herrera, E.W.**, INFLAMACION I. *Revista de actualización clínica investiga*, 2014. pp. 2261.
- Villar, J.**, Cómo investigar en algo tan subjetivo como el dolor. *Revista de la Sociedad Española del Dolor*, 2006. Vol. 13, no. 4, pp. 250-253. ISSN 1134-8046.
- Yoo, M.C., Et.Al.** , Etoricoxib in the treatment of Korean patients with osteoarthritis in a double-blind, randomized controlled trial. *Current Medical Research and Opinion*, 2014. Vol. 30, no. 12, pp. 2399-2408. ISSN 0300-7995. DOI 10.1185/03007995.2014.955169.

Zhou, Y., Et.Al. High-throughput screening of a CRISPR/Cas9 library for functional genomics in human cells. *Nature*, 2014. Vol. 509, no. 7501, pp. 487-491. ISSN 1476-4687. DOI 10.1038/nature13166.

ANEXOS

ANEXO A: Tabla de medias

Tabla 1-A: medias obtenidas del volumen de desinflamación de los tratamientos administrados con ayuda del programa SPSS 23.

TRATAMIENTOS					
VARIABLE DEPENDIENTE		MEDIA	ERROR TÍP.	INTERVALO DE CONFIANZA 95%	
				LÍMITE INFERIOR	LÍMITE SUPERIOR
Inflamación 27 horas	T 1	<i>0,93</i>	,075	,755	1,095
	T 2	<i>0,48</i>	,075	,305	,645
	T 3	<i>0,48</i>	,075	,305	,645
Inflamación 24 horas	T 1	<i>0,95</i>	,043	,852	1,048
	T 2	<i>1,45</i>	,043	1,352	1,548
	T 3	<i>1,43</i>	,043	1,327	1,523
Inflamación 20 horas	T 1	<i>0,95</i>	,052	,832	1,068
	T 2	<i>1,30</i>	,052	1,182	1,418
	T 3	<i>1,28</i>	,052	1,157	1,393
Inflamación 12 horas	T 1	<i>0,95</i>	,049	,840	1,060
	T 2	<i>1,18</i>	,049	1,065	1,285
	T 3	<i>1,18</i>	,049	1,065	1,285
Inflamación 8 horas	T 1	<i>0,95</i>	,063	,806	1,094
	T 2	<i>1,13</i>	,063	,981	1,269
	T 3	<i>1,18</i>	,063	1,031	1,319
Inflamación 4 horas	T 1	<i>0,93</i>	,046	,820	1,030
	T 2	<i>1,05</i>	,046	,945	1,155
	T 3	<i>1,10</i>	,046	,995	1,205
Inflamación 2 horas	T 1	<i>0,93</i>	,034	,847	1,003
	T 2	<i>1,03</i>	,034	,947	1,103
	T 3	<i>0,98</i>	,034	,897	1,053
Inflamación 1 hora	T 1	<i>0,93</i>	,028	,862	,988
	T 2	<i>1,00</i>	,028	,937	1,063
	T 3	<i>1,00</i>	,028	,937	1,063

ANEXO B: Análisis estadístico de la comparación entre los tres tratamientos aplicados para evaluar la actividad antiinflamatoria.

Pruebas de normalidad						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
DESINFLAMACION	,207	24	,009	,921	24	,061

Gráfico 1-B: prueba para la determinación de la normalidad de los datos.

Realizado por: Joselyn Pilco L., 2018.

Prueba de homogeneidad de varianzas			
DESINFLAMACION			
Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
4,497	7	16	,06

Gráfico 2-B: prueba para la determinación de la homogeneidad de varianzas de los datos.

Realizado por: Joselyn Pilco L., 2018

ANOVA					
DESINFLAMACION					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,769	7	,110	3,815	,013
Intra-grupos	,461	16	,029		
Total	1,229	23			

Gráfico 3-B: prueba de ANOVA de un factor

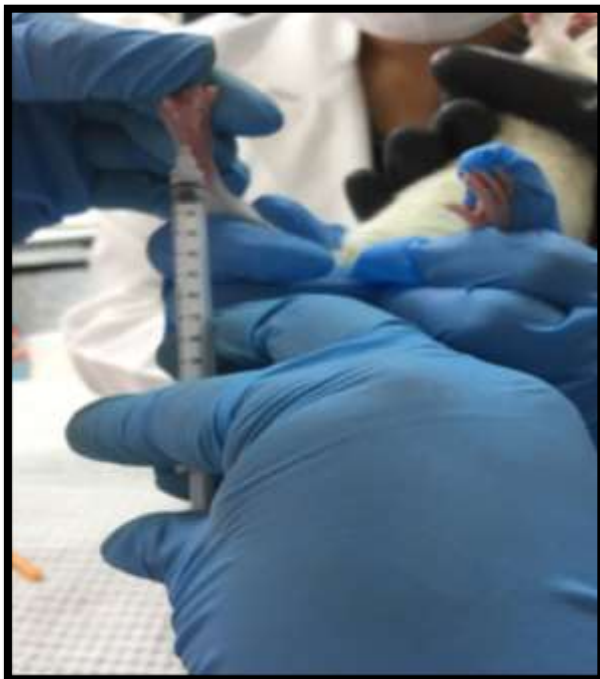
Realizado por: Joselyn Pilco L., 2018

Tukey							
Variable dependiente		Diferencia de medias (I-J)	Error tip.	Sig.	Intervalo de confianza 95%		
					Límite inferior	Límite superior	
IF 27 horas	T1	T2	,21742*	,045221	,000	,07208	,36277
		T3	,27833*	,046386	,000	,12924	,42743
	T2	T1	-,21742*	,045221	,000	-,36277	-,07208
		T3	,06091	,047334	,416	-,09123	,21305
	T3	T1	-,27833*	,046386	,000	-,42743	-,12924
		T2	-,06091	,047334	,416	-,21305	,09123
IF 24 horas	T1	T2	,27273*	,058518	,000	,08464	,46082
		T3	,31000*	,060025	,000	,11707	,50293
	T2	T1	-,27273*	,058518	,000	-,46082	-,08464
		T3	,03727	,061253	,817	-,15961	,23415
	T3	T1	-,31000*	,060025	,000	-,50293	-,11707
		T2	-,03727	,061253	,817	-,23415	,15961
IF 20 horas	T1	T2	,19015	,067630	,025	-,02723	,40753
		T3	,21833	,069372	,012	-,00464	,44131
	T2	T1	-,19015	,067630	,025	-,40753	,02723
		T3	,02818	,070791	,917	-,19935	,25572
	T3	T1	-,21833	,069372	,012	-,44131	,00464
		T2	-,02818	,070791	,917	-,25572	,19935
IF 8 horas	T1	T2	,13333	,065817	,128	-,07822	,34488
		T3	,18333	,067512	,041	-,03366	,40033
	T2	T1	-,13333	,065817	,128	-,34488	,07822
		T3	,05000	,068893	,751	-,17144	,27144
	T3	T1	-,18333	,067512	,041	-,40033	,03366
		T2	-,05000	,068893	,751	-,27144	,17144
IF 4 horas	T1	T2	,06894	,064704	,544	-,13903	,27691
		T3	,14167	,066371	,104	-,07166	,35500
	T2	T1	-,06894	,064704	,544	-,27691	,13903
		T3	,07273	,067728	,539	-,14497	,29042
	T3	T1	-,14167	,066371	,104	-,35500	,07166
		T2	-,07273	,067728	,539	-,29042	,14497
IF 2 horas	T1	T2	,05985	,069178	,667	-,16250	,28220
		T3	,04167	,070960	,828	-,18641	,26975
	T2	T1	-,05985	,069178	,667	-,28220	,16250
		T3	-,01818	,072411	,966	-,25093	,21456
	T3	T1	-,04167	,070960	,828	-,26975	,18641
		T2	,01818	,072411	,966	-,21456	,25093
IF 1 hora	T1	T2	,05076	,067586	,736	-,16648	,26799
		T3	,05167	,069326	,739	-,17116	,27450
	T2	T1	-,05076	,067586	,736	-,26799	,16648
		T3	,00091	,070744	1,000	-,22648	,22830
	T3	T1	-,05167	,069326	,739	-,27450	,17116
		T2	-,00091	,070744	1,000	-,22830	,22648

Gráfico 4-B: Prueba PostHoc: Test de Tukey para comparación. de medias

Realizado por: Joselyn Pilco L., 2018

ANEXO C: Evaluación de la actividad antiinflamatoria



Fotografía 1-C: inducción de la inflamación con solución de carragenina al 1%

Realizado por: Joselyn Pilco L., 2018



Fotografía 2-C: edema plantar a las dos horas de administración de carragenina

Realizado por: Joselyn Pilco L., 2018



Fotografía 3-C: tratamientos administrados

Realizado por: Joselyn Pilco L., 2018