

# ESTANDARIZACIÓN DE FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS ADMINISTRADOS A UN MODELO MÚRIDO PARA EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIARTRÍTICA

Reyes Cisneros, Andrea (1), Escobedo Martínez, Carolina (2), Guzmán Gutiérrez, Silvia Laura (3), Deveze Álvarez, Martha Alicia (4), Enríquez Habib, Raúl Guillermo (5)

1 [Licenciatura en Químico Farmacéutico Biólogo, División de Ciencias Naturales y Exactas] | Dirección de correo electrónico: [a.reyes@ugto.mx]

2 [Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato] | Dirección de correo electrónico: [c.escobedo@ugto.mx].

3 [Catedrática CONACyT. Departamento de Inmunología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Campus México, DF, Universidad Nacional Autónoma de México] | Dirección de correo electrónico: [saguzmangu@conacyt.mx].

4 [Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato] | Dirección de correo electrónico: [devezem@hotmail.com].

5 [Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México] | Dirección de correo electrónico: [habib@unam.mx]

## Resumen

La artritis reumatoide es una enfermedad inflamatoria crónica que afecta preferentemente a las articulaciones de forma simétrica. Entre los fármacos para aliviar el dolor y la inflamación a corto plazo están los antiinflamatorios no esteroideos (AINE). En el presente estudio se analizaron los AINE fenilbutazona e Indometacina (80 mg/kg y 0.7 mg/kg respectivamente) administrados vía oral en ratas de la cepa wistar, machos y hembras artríticas, para comparar el efecto antiinflamatorio de estos fármacos considerando el género. Se registró una actividad antiartrítica significativa de la fenilbutazona en machos, manteniéndose constante su actividad durante fase crónica. En el caso de la indometacina se registró una actividad antiinflamatoria significativa durante la fase aguda.

## Abstract

Rheumatoid arthritis is a chronic inflammatory disease that preferentially affects joints symmetrically. Among the drugs to relieve pain and inflammation in the short term are non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). In the present study, the NSAIDs phenylbutazone and Indomethacin (80 mg / kg and 0.7 mg / kg respectively) were administered orally in rats of the male and female arthritic Wistar strain, to compare the anti-inflammatory effect of these drugs considering gender. Significant anti-arthritic activity of phenylbutazone was recorded in males, keeping its activity constant during the chronic phase. In the case of indomethacin, significant anti-inflammatory activity was recorded during the acute phase.

### Palabras Clave

Indometacina; fenilbutazona; Adyuvante completo de Freund, ratas wistar

## INTRODUCCIÓN

La inflamación (del latín *inflammatio* “encender”, “hacer fuego”) Es la respuesta local de los tejidos vivos a la agresión o a los estímulos nocivos. La capacidad para desencadenar una respuesta inflamatoria es esencial para la supervivencia al enfrentar a patógenos ambientales y lesiones; en algunas situaciones y enfermedades [1].

La inflamación aguda es la respuesta temprana (casi inmediata) de un tejido a una lesión. No es específico y puede ser provocado por cualquier lesión que no sea letal. La inflamación aguda puede considerarse como la primera línea de defensa contra la lesión y se caracteriza por cambios en la microcirculación: exudación de líquido y emigración de leucocitos de los vasos sanguíneos al área de la lesión. La inflamación crónica se refiere a una respuesta prolongada que implica un cambio progresivo en el tipo de células presentes en el sitio de la inflamación [2].

La inflamación crónica a menudo comienza con la misma respuesta celular, pero se transforma en un estado persistente que permanece durante meses o años cuando la respuesta del sistema inmune no puede eliminar el problema.

Artritis significa inflamación de una o más articulaciones del cuerpo. Existen más de 100 formas de artritis y los dos tipos más comunes son la osteoartritis y la artritis reumatoidea. La osteoartritis, también conocida como enfermedad degenerativa de las articulaciones, es causada en parte por la degeneración de piezas de la articulación tales como el cartílago y empeora con la edad. El desgaste y la rotura progresiva de las partes afectadas de la articulación pueden provocar una reacción inflamatoria.

La artritis reumatoidea (AR), por otro lado, es una enfermedad autoinmune en la que las mismas defensas del cuerpo atacan el recubrimiento normal de las articulaciones. En este tipo de artritis, la inflamación del revestimiento de la articulación se desarrolla primero, y con el tiempo daña las partes componentes de la articulación [3].

Los principales tipos de fármacos utilizados para tratar la artritis son los analgésicos los AINE, los corticoides y sobre todo los fármacos modificadores de la enfermedad. Algunos de los medicamentos para controlar los síntomas de la artritis son los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) que se utilizan para ayudar a aliviar el dolor y a combatir la inflamación que acompaña a la AR. Algunos AINE incluyen, la aspirina, el ibuprofeno y el naproxeno, entre otros [4].

La fenilbutazona se utiliza en enfermedades reumáticas como artritis reumatoide, osteoartritis, espondilitis anquilosante. Es un agente sintético con propiedades antiinflamatorias, antipiréticas y analgésicas que parecen estar relacionadas con su capacidad para inhibir la biosíntesis de prostaglandinas. Aun cuando su actividad antiinflamatoria es similar a la de los salicilatos, su toxicidad limita en gran medida su uso clínico. También inhibe la migración leucocitaria y altera los procesos celulares e inmunológicos en los tejidos mesenquimatoso y conectivo, lo cual contribuye al aumento de sus efectos antiinflamatorios y explica su utilidad en el control de los procesos reumáticos. Dado que la respuesta a diferentes AINE varía de paciente a paciente, no es inusual que un médico pruebe una variedad de AINE para cualquier condición dada. Sin embargo, debido a un riesgo único de supresión de la médula ósea (que causa conteos de glóbulos blancos peligrosamente bajos), la fenilbutazona generalmente se reserva solo para uso a corto plazo en pacientes seleccionados [5].

La indometacina funciona al reducir la producción de prostaglandinas. Las prostaglandinas son sustancias químicas que el cuerpo produce y que causan la fiebre y el dolor que están asociados con la inflamación. La indometacina bloquea las enzimas que producen las prostaglandinas (ciclooxigenasa 1 y 2) [6].

Estudios histológicos revelaron que la indometacina también causa necrosis hepática periportal leve y proliferación de células de kupffer. Por lo tanto, se muestra que algunos antiinflamatorios no esteroideos pueden tener efectos adversos en ratas. La indometacina tiene el mayor efecto tóxico sobre los roedores [7].

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Fármacos

Los compuestos Fenilbutazona e indometacina cristalina fueron obtenidas del proveedor Sigma Aldrich.

### Vehículo

Para administrar Fenilbutazona e Indometacina se utilizó como vehículo aceite de maíz (0.1 ml/100 g), y DMSO al 5 % respecto al volumen total de aceite para cada una de las dosis.

### Animales

Todos los experimentos se realizaron de acuerdo con los estándares éticos para la investigación experimental del dolor en animales de la Norma Oficial Mexicana para el cuidado y manejo de animales (NOM-062-ZOO-1999). Se utilizaron ratas hembra y macho Wistar consanguíneas (250-300 g), éstas fueron obtenidas del Bioterio de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad de Guanajuato. Los animales se alojaron en 8 grupos: Vehículo machos/Fenilbutazona, Vehículo hembras/Fenilbutazona, Fenilbutazona machos, Fenilbutazona, hembras, Vehículo machos/Indometacina, Vehículo hembras/Indometacina, Indometacina hembras, Indometacina machos, de 6 ratas cada grupo. Al término del experimento (25 días), todos los animales fueron sacrificados por sobredosis de anestésico y diseccionados para almacenar sus órganos (estómago, hígado, riñones, pulmones) en solución de formaldehído al 10%, para su análisis posterior.

#### *Actividad anti-inflamatoria*

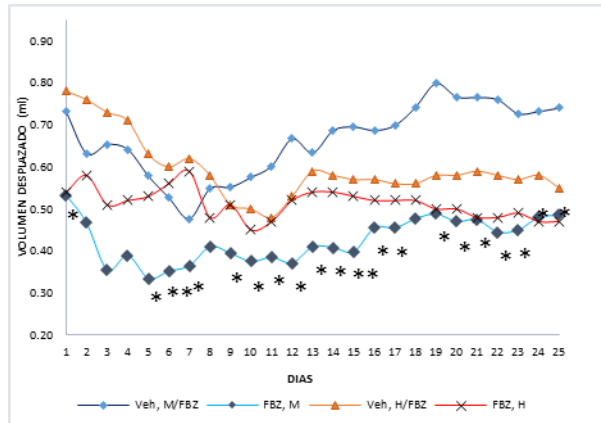
El estado artrítico se indujo mediante inyección intradérmica plantar (a través de una aguja de calibre 20) en la pata trasera derecha de 0,05 ml de adyuvante de Freund completo (Sigma Aldrich). Este método, descrito por Newbould (1963) [8], ha sido ampliamente utilizado para detectar posibles fármacos anti-inflamatorios con actividad antiartrítica. Entre los diversos tipos de adyuvantes disponibles, el más comúnmente utilizado en animales de experimentación es el adyuvante de Freund completo (CFA), que contiene micobacterias muertas, usualmente *Mycobacterium bovis* BCG a una concentración de 1 mg/ml o menos.

El grado de edema se evaluó por el método de desplazamiento volumétrico, utilizando un pletismómetro digital PAN LAB. El desplazamiento de volumen se registró 24 h antes. Para la evaluación de la actividad en la inducción de artritis, las diferencias de volumen en la pata trasera se registraron diariamente hasta por 25 días después de la inyección. La fenilbutazona (80 mg/kg) y la Indometacina (0.7 mg/kg) fueron administrados vía oral antes de la inyección de CFA y diariamente durante 14 días después, previo ayuno de 1 h. Además de observar el estado de aparición o progresión de lesiones secundarias en los animales de ensayo.

Las diferencias entre los grupos de cada fármaco y su respectivo vehículo se analizaron mediante la prueba de t-student. Un valor de p inferior a 0,05 se consideró estadísticamente significativo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

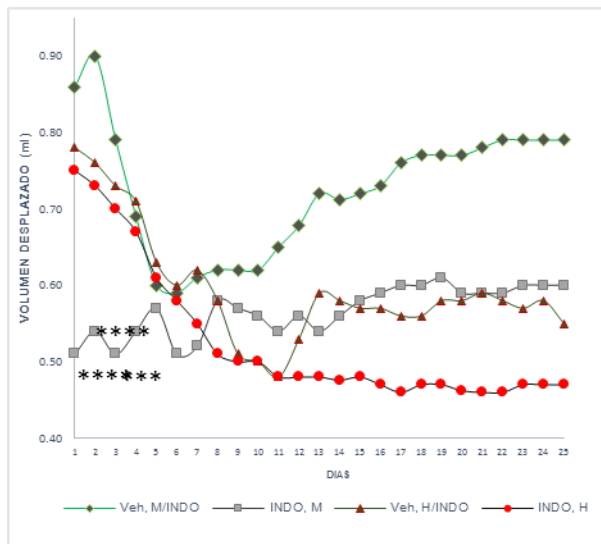
El efecto de la Fenilbutazona en los machos a partir de los primeros días post-inducción de la inflamación utilizando CFA registró que existe una disminución en la inflamación hasta el día 3. En el caso del vehículo machos/Fenilbutazona registró que dicha inflamación disminuyó hasta el día 7. El efecto de la Fenilbutazona en machos es progresivo a partir del día 5 y significativamente antiinflamatorio hasta el día 25 (Imagen 1). Por otro lado, la fenilbutazona en hembras, no tuvo respuesta antiinflamatoria significativa, a pesar de encontrarse los valores registrados de volumen de desplazamiento por debajo de la respuesta del grupo vehículo hembras/fenilbutazona (Imagen 1).



**IMAGEN 1:** Efecto de la administración (p.o.) de fenilbutazona (80 mg / kg) en machos y hembras por un periodo de 25 días, induciendo con CFA la fase de inflamación en la pata trasera del múrido (rata). Cada punto en el curso del tiempo muestra la media de cinco mediciones. Los datos se analizaron mediante la prueba de t-student  $p < 0.05$

Sin embargo, la Fenilbutazona debido a su toxicidad no se emplea como analgésico o antipirético general. Es efectiva en la mayoría de transtornos músculo esqueléticos (espondilitis anquilosante, osteoartritis, artritis reumatoide, gota), pero sólo debe usarse en aquellos transtornos reumáticos agudos que no han respondido a otras terapias con drogas menos tóxicas [9].

Utilizando la Indometacina como agente antiinflamatorio, los resultados indican un efecto significativo en los machos sólo para los tres primeros días, en cambio, en las hembras administradas con indometacina (0.7 mg/kg), se observó poca actividad desinflamatoria respecto al grupo vehículo hembras/Indometacina durante los días 1-6, e inclusive a partir del día 9 al 11 los valores registrados de volumen desplazado se encontraron traslapados, y aunque a partir del día 11 hasta el día 25 se registraron valores por debajo de los obtenidos en comparación con el grupo vehículo hembras/Indometacina, ellos no fueron significativos (Imagen 2).



**IMAGEN 2:** Efecto de la administración (p.o.) de indometacina (0.07 mg / kg) en machos y hembras por un periodo de 25 días, induciendo con CFA la fase de inflamación en la pata trasera del modelo múrido (rata). Cada punto en el curso del tiempo muestra la media de cinco mediciones. Los datos se analizaron mediante la prueba de t-student  $p < 0.05$ .

La Indometacina es un fármaco utilizado para aliviar el dolor moderado a agudo, sensibilidad, inflamación (hinchazón) y rigidez causada por la osteoartritis, la artritis reumatoide y la espondilitis anquilosante (artritis que afecta principalmente la columna vertebral). En términos de importancia, la potencia analgésica y antiinflamatoria de los fármacos derivados del ácido arilpropinoico es mayor que la observada con la Indometacina y mayor que la del ácido acetilsalicílico. La indometacina es única entre los AINE, ya que es el fármaco de elección para el tratamiento de la artritis gotosa. La indometacina es un medicamento muy ulcerogénico que puede causar hemorragia por úlceras fatales, causa más retención de líquidos en comparación con ibuprofeno, cefalea frontal frecuente, pancreatitis, infarto de miocardio y los accidentes cerebrovasculares son efectos indeseados específicos de la indometacina, no se deben usar como otros AINE si se ha realizado recientemente o se va a someter a una cirugía de bypass cardíaco, así como en mujeres embarazadas de más de 29 semanas de gestación [10].

## CONCLUSIÓN

La Fenilbutazona administrada a una dosis de 80 mg/kg tanto a ratas wistar macho y hembra, registró actividad antiinflamatoria, siendo significativa en fase crónica sólo para el grupo de ratas wistar machos que fueron comparadas con el grupo vehículo machos/Fenilbutazona. En el caso de la Indometacina administrada a una dosis de 0.7 mg/kg de igual manera a ratas wistar macho y hembra, registró actividad significativa antiinflamatoria en fase aguda sólo para el grupo de ratas wistar machos que fueron comparadas con el grupo vehículo machos/indometacina.

Será importante considerar que existen estudios que afirman que más del 75% de los experimentos utilizan animales machos, pues existe interferencia con los ciclos hormonales de las hembras y así los efectos que pueden ocasionar en los resultados, de aquí que el género influye en la prevalencia, curso y la gravedad de las enfermedades.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la asistencia técnica del C. Juan Pedro Galván Chía

## REFERENCIAS

- [1] Abel Archudia Garcia , Cirugía 1, McGraw-Hill, 6ta edición , 2014.
- [2]. Parakrama Chandrasoma, Clive R. Taylor, Concise Pathology, 3e, Lange
- [3]. Arthritis Foundation National Office. (2016). ¿Qué es la artritis? . 18 de junio del 2018, de Arthritis Foundation National Sitio web: <http://espanol.arthritis.org/espanol/la-artritis/quienes-somos-que-es-artritis/>
- [4]. Lario Bonifacio Alvarez,. (2003). Tratamiento de la Artritis Reumatoide. En El libro de la artritis reumatoide(268). Madrid : Díaz de Santos.
- [5]. Eni Williams, PharmD, Ph. (2018). phenylbutazone. 18 de junio del 2018, de MedicineNet, Inc Sitio web: [https://www.medicinenet.com/phenylbutazone/article.htm#what\\_else\\_should\\_i\\_know\\_about\\_phenylbutazone](https://www.medicinenet.com/phenylbutazone/article.htm#what_else_should_i_know_about_phenylbutazone)
- [6]. Omudhome Ogbu, PharmD . (2018). indomethacin. 18 de junio del 2018, de MedicineNet, Inc Sitio web: [https://www.medicinenet.com/indomethacin/article.htm#which\\_drugs\\_or\\_supplements\\_interact\\_with\\_indomethacin](https://www.medicinenet.com/indomethacin/article.htm#which_drugs_or_supplements_interact_with_indomethacin)
- [7]. Abatan, M. O, Lateef I. and Taiwo V.O. . (2006). Toxic Effects of Non-Steroidal AntiInflammatory Agents in Rats . African Journal of Biomedical Research, 9 , 2019-223.
- [8]. Newbould, B.B., Chemotherapy of arthritis induced in rats by micobacterial adyuvant. Br. J. Pharmacol, 1963. 21: p. 127-136
- [9] Martindale, Guía completa de consulta farmacoterapéutica, 1ª ed.(2003). The Merck Index, 13ª ed. (2001). Monografías Farmacéuticas, C.O.F. de Alicante (1998). Formulario médico farmacéutico, PharmaBooks, 2010.
- [10]. Omar Rashid, Maher M.a Jarbawi . (Abril 2017 ). The effect Of Indometacin on glucose serum. IJRRANSS, 5, 8.