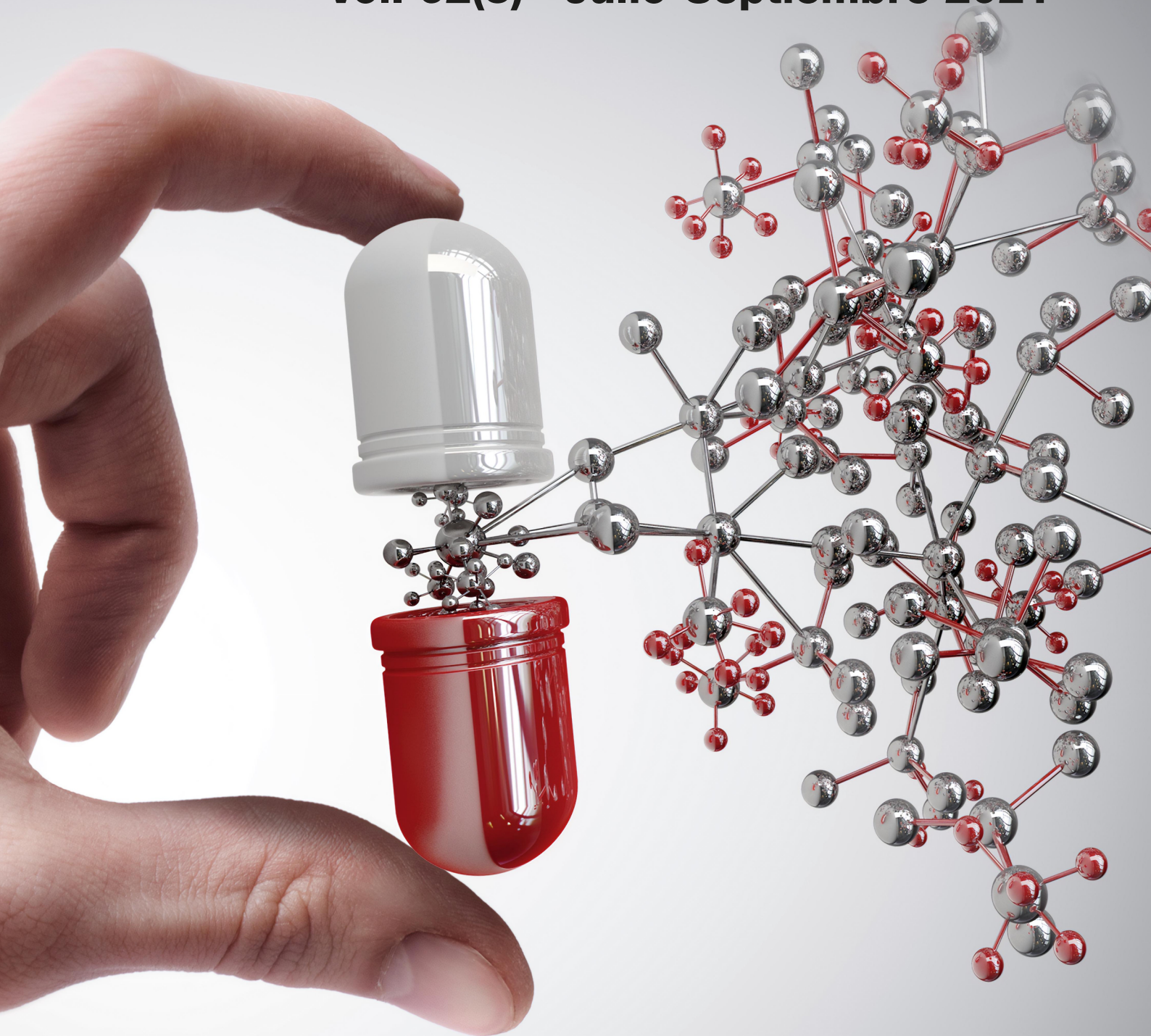


E-ISSN 2340-9894 · EDITA: FACULTAD DE FARMACIA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA

Ars Pharmaceutica

Vol. 62(3) · Julio-Septiembre 2021



E-ISSN 2340-9894

Ars Pharmaceutica es una revista científica de carácter multidisciplinar, en el ámbito de las Ciencias Farmacéuticas en su sentido más amplio, con especial énfasis en la Tecnología y Química Farmacéutica, Farmacología, y Atención Farmacéutica. Ha sido pionera en España en estas disciplinas, editada por la Facultad de Farmacia de la Universidad de Granada desde 1960 de manera ininterrumpida. Durante este tiempo se ha ido adaptando a la evolución de la mayoría de las revistas científicas, en la que se ha pasado de su publicación en papel a convertirla en una revista electrónica de libre acceso. Esto ha supuesto una mayor accesibilidad de investigadores de todos los países a la publicación, lo que se ha podido comprobar por el número de visitas recibidas en la web y un interés por publicar sus trabajos en ella. El hecho de aceptar trabajos en español o inglés indistintamente, también ha contribuido a aumentar el número de originales recibidos en la última década.

Actualmente se encuentra indexada en las siguientes bases de datos/directorios/repertorios: EMERGING SOURCE CITATION INDEX (ESCI), EBSCO, EMBASE, DIALNET, DOAJ, GOOGLE ACADEMICO, LATININDEX, REDIB, SCIELO, SCOPUS IBECS, MIAR y es nuestra intención aumentar su presencia en otras bases.

Se han establecido de forma clara las distintas categorías de trabajos que se pueden publicar. Para agilizar el envío de originales a través de la web se ha desarrollado un sistema electrónico de envío. Se han habilitado recursos humanos y económicos, que nos permiten ofrecer la revista en formato electrónico y de forma gratuita a todos los científicos y profesionales interesados.

Esta revista es el órgano de expresión de la “Cátedra Maria José Faus Dader de Atención Farmaceutica”, desde 2012.

En el año 2020 se le ha renovado el sello de calidad editorial otorgado por la FECYT, por un periodo de tres años. Por ello desde aquí invitamos a todos los autores a enviar sus aportaciones a las distintas secciones de la revista.

Los informes proporcionados por SCImago Journal & Country Rank en 2019, colocan a nuestra revista en el campo de las ciencias farmacéuticas con un índice H de 19 y un SJR de 0,121.

La revista se alinea con la Open Access Journal y los artículos que se publican lo hacen según los términos de la licencia Creative Commons 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0) desde 2018. Ars Pharmaceutica no cobra tasas por el envío de trabajos, ni por la publicación de sus artículos.

Es deseo de este Comité Editorial y del Equipo Decanal de la Facultad de Farmacia de seguir avanzando en el decidido empeño de conseguir la entrada en el ISI, para ello queremos seguir contando con el apoyo de investigadores y profesionales de las Ciencias farmacéuticas y la ayuda desinteresada de cuantos revisores integran el cuadro de experto de esta revista en sus distintas áreas.

Contacto de la Redacción

Editorial Office Contact Info

Ars Pharmaceutica.

Facultad de Farmacia.

Universidad de Granada.

Campus de Cartuja s/n.

18071 -Granada. España

email: ars@ugr.es

Edita

Scientific Editor

Facultad de Farmacia de la Universidad de Granada

Publica

Publisher

Facultad de Farmacia de la Universidad de Granada

Campus de Cartuja, s.n.

18071 - GranadaEspaña | Spain

Editada bajo licencia CC 4.0 BY-NC-SA.

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Toda la información sobre la revista en
More info about the journal available on

<http://revistaseug.ugr.es/index.php/ars>

Equipo Editorial

Director

Dr. Fernando Martínez-Martínez, Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Granada, España

Directora Ejecutiva

Dra. María José Faus, Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Granada, España

Editora

Dra. María Dolores Ruiz-López, Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Granada, España

Coordinadores de área

Atención Farmacéutica

Dr. José Pedro García Corpas, Cátedra Atención Farmacéutica, Univ. de Granada, España

Farmacia Clínica

Dr. Miguel Ángel Calleja, Farmacia Hospitalaria. Hospital Virgen de las Nieves. Granada, España

Química Farmacéutica

Dr. Joaquín María Campos Rosa, Química Farmacéutica y Orgánica Univ. Granada, España

Salud

Dra. Reyes Artacho. Nutrición y Bromatología. Universidad de Granada. Granada. España

Radiofarmacia

Dr Antonio Matilla, Química Inorgánica, Radiofarmacia. Univ. de Granada, Granada, España

Tecnología Farmacéutica

Dra. Beatriz Clares Naveros, Tecnología Farmaceutica. Univ. de Granada, España

Estudios clínicos

Dra. Carmina Wanden-Berghe, Hospital General de Alicante, España

Legislación y Gestión farmacéutica

Dra. María Dolores Cabezas López. Farmacia Asistencial, social y Legal. Universidad de Granada. España

Consejo Asesor

Dr. Shalom Isaac Benrimoj, Pharmacy Practice. Univ. Tecnología Sydney, Australia

Dr. Jesús Culebras, Real Academia de Medicina y Cirugía Valladolid. Univ. de León, España

Dr. Tomas de Haro, Análisis Clínico. Hosp. Clínico San Cecilio. Granada, España

Dr. Fernando Fernández-Llimós, Farmacia Social. Univ. de Lisboa, Portugal

Dr. Eduardo Luis Mariño, Unidad Farmacia Clínica. Univ. de Barcelona, España

Dra. Lucrecia Moreno, Farmacología. Univ. CEU Cardenal Herrera. Valencia, España

Dr. Antonio Perez de la Cruz. Clínica. Hosp. Virgen de las Nieves, Granada. España

Dr. Carlos Tomás Quirino Barreda. Univ. Autónoma Metropolitana-Xochimilco. México

Dr. José Luis Quiles, Fisiología, Univ. de Granada. España

Dr. Bartolomé Quintero, Físicoquímica. Univ. de Granada. Granada, España

Dr. Antonio Rabasco, F y Tecnología Farmacéutica. Univ. de Sevilla, España

Dra. María del Carmen Ramírez Tortosa, Bioquímica y Biología molecular. Universidad de Granada, España

Dr. Daniel Sabater, Pharmacy Practice. Univ. Tecnología Sydney, Australia

Dr. Javier Sanz, Salud Pública e Historia de la Ciencia. Univ. Miguel Hernández. Elche, España

Sumario Contents

Artículos Originales / Original Articles

- 224-234 BEHZAD SHARIF MAKHMALZADE, MASOUD ALI KARAMI, NARGES MOSADDEGH RAD
Preparation and characterization of topical solid lipid nanoparticles containing Deferoxamine
Preparación y caracterización de nanopartículas lipídicas sólidas tópicas que contienen deferoxamina
- 235-248 MIRIAM GUTIÉRREZ-RAMOS, KATHERINE CARRERA-GARCIA, LEYDI DE LA CRUZ-RODRÍGUEZ, LENNIN RODRIGUEZ-SAAVEDRA
Probabilidad de experimentar estrés oxidativo en profesionales de la salud de la ciudad de Lima
Probability of experiencing oxidative stress in health professionals from Lima city
- 249-259 KATTIA BERMÚDEZ-CARVAJAL, MARÍA SOLEDAD QUESADA-MORÚA, ADRIANA BRENES-AGUILAR, GLORIA ARIAS-PORRAS
Desarrollo de una guía de seguimiento farmacoterapéutico de pacientes pediátricos con enfermedad renal crónica
Pharmacotherapeutic follow-up guide for pediatric patients with chronic kidney disease
- 260-269 BLAZHEVSKIY MYKOLA, KOVAL'SKA OLENA
Application Enzymatic Method for Analysis Vaginal Tabletas "Fluomizin"
Aplicación método enzimático para análisis comprimidos vaginales "fluomizin"
- 270-279 REZVAN GOODARZI, MOHAMMAD TAHERI, FARHAD FARAHANI, MAHDANE ROSHANI, BABAK ASGHARI
Comparative study of in vitro activities of polymyxin B commercial products on Pseudomonas aeruginosa isolated from hospitalized patients
Estudio comparativo de las actividades in vitro de productos comerciales de polimixina B sobre Pseudomonas aeruginosa aislada de pacientes hospitalizados

- 280-289 HÉCTOR ALEXANDER VILCHEZ-CÁCEDA, UIS ADOLFO CERVANTES-GANOZA, MIGUEL ÁNGEL INOCENTE-CAMONES, KETTY ROJAS-BERASTEIN
Role-play para la atención farmacéutica en la pandemia COVID-19 como método de enseñanza para los estudiantes de Farmacia y Bioquímica
Role-play for Pharmaceutical Care in the Pandemic COVID-19 as a teaching method for students of Pharmacy and Biochemistry
- 290-304 MORESHWAR PATIL, PRASHANT PANDIT, PAVAN UDAVANT, SANDEEP SONAWANE, DEEPAK BHAMBERE
Development and Optimization of Proniosomal Gel Containing Etodolac: In-vitro, Ex-vivo and In-vivo Evaluation
Desarrollo y optimización del gel proniosomal que contiene etodolaco: evaluación in vitro, ex vivo e in vivo

Originales breves/ Short Articles

- 305-314 SONIA RUIZ-BOY, CARLA BASTIDA, MERCÈ BRUNET, DOLORS SOY
Evaluación de las concentraciones plasmáticas de voriconazol en práctica clínica
Assessment of plasma voriconazole concentrations in clinical practice

Artículos revisión / Review Articles

- 315-327 LENNIN RODRIGUEZ-SAAVEDRA, LUIS CRUZ-ARANDA, CLAUDIA CRUZ-JULCA, PEDRO ALVA-PLASENCIA
Calidad Biofarmacéutica e Intercambiabilidad de Medicamentos
Biopharmaceutical Quality and Interchange of Drugs
- 328-342 FRANCISCO JAVIER FERREIRA ALFAYA
Desfinanciación de los condroprotectores: ¿Una laguna terapéutica?
Underfunding of chondroprotectors: A therapeutic gap?

doi: 10.30827/ars.v62i3.15493

Artículos originales

Preparation and characterization of topical solid lipid nanoparticles containing Deferoxamine

Preparación y caracterización de nanopartículas lipídicas sólidas tópicas que contienen deferoxamina

Behzad Sharif Makhmalzade¹  0000-0002-1441-3127

Masoud Ali Karami¹  0000-0001-6167-7240

Narges Mosaddegh Rad¹  0000-0000-0000-0000

¹Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Health Research Institute, Nanotechnology Research Center, Ahvaz, Iran

Correspondence

Karami Masoud Ali
makarami@ajums.ac.ir
mmkarami@yahoo.com

Received: 14.06.2020

Accepted: 25.04.2021

Published: 21.06.2021

Funding

This study was a part of Pharm. D thesis belonged to Narges Mosaddegh Rad and carried out under financial support provided by Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Resumen

Introducción: El mesilato de deferoxamina aumenta la transactivación alfa inducible por hipoxia del factor 1 al prevenir el estrés por oxígeno reactivo catalizado por hierro, por lo que puede usarse para mejorar la cicatrización de la úlcera diabética. Este estudio se llevó a cabo para desarrollar y estudiar las propiedades fisicoquímicas de nanopartículas lipídicas sólidas cargadas con deferoxamina tópica.

Método: Se prepararon nanopartículas de lípidos sólidos utilizando la técnica de homogeneización en frío y un diseño factorial completo para evaluar el efecto del tipo de tensioactivo y la cantidad de lípidos. Se llevó a cabo la caracterización in vitro de las formulaciones, incluido el tamaño y la distribución de las partículas, el comportamiento térmico mediante calorimetría de barrido diferencial, la eficiencia de atrapamiento y el perfil de liberación.

Resultados: Los resultados mostraron un rango aceptable de tamaño de partícula (2,88-174 nm), una distribución de tamaño estrecha y un promedio del 60% para la eficacia de atrapamiento del fármaco, lo que es significativo para un fármaco hidrófilo. Los resultados del estudio de liberación mostraron una liberación de ráfaga inicial seguida de una manera lenta y prolongada. Los resultados de la calorimetría diferencial de barrido también confirmaron los resultados obtenidos de las evaluaciones de carga y liberación. La mejor formulación que tenía un alto nivel de carga de fármaco y la menor tasa de liberación de fármaco contenía compritol y ácido oleico en una cantidad del 8% de la fórmula total, así como tween 80 y lecitina como una mezcla de tensioactivos.

Conclusiones: El estudio demostró que el mesilato de deferoxamina podría cargarse en nanopartículas de lípidos sólidos para administrar por vía tópica.

Palabras clave: Mesilato de deferoxamina; Nanopartículas de lípidos sólidos; Entrega de formulación tópica

Abstract

Introduction: Deferoxamine mesylate increases hypoxia inducible factor-1 alpha transactivation by preventing iron-catalyzed reactive oxygen stress, so it can be used to improve diabetic ulcer healing. This study was undertaken to develop and study physicochemical properties of topical deferoxamine-loaded solid lipid nanoparticles.

Method: Solid lipid nanoparticles were prepared using cold homogenization technique and full factorial design to evaluate the effect of surfactant type and amount of lipid. In-vitro characterization of formulations including particle size and distribution, thermal behavior using Differential Scanning Calorimetry, entrapment efficiency, and release profile were carried out.

Results: The results showed an acceptable range of particle size (2.88–174 nm), a narrow size distribution, and an average of 60% for drug entrapment efficiency which is significant for a hydrophilic drug. The results from release study showed an initial burst release followed by a slow and prolonged manner. Differential Scanning Calorimetry results also confirmed the results obtained from loading and release evaluations. The best formulation which had a high level of drug loading and the lowest drug release rate contained compritol and oleic acid in the amount of 8% of the total formula, as well as tween 80 and lecithin as a mixture of surfactants.

Conclusions: The study demonstrated deferoxamine could be loaded in solid lipid nanoparticles to deliver topically.

Keywords: Deferoxamine mesylate; Solid Lipid Nanoparticles; Topical formulation delivery

Highlights

Deferoxamine can be topically used to improve diabetic ulcer healing due to its capability of iron-chelating and improving angiogenesis. Solid lipid nanoparticles as a novel drug delivery carrier was applied not only to protect the drug from environmental damaging factors, but also to provide a local high concentration and a sustained-release of the drug. In such a way the limitations of oral and injection routes of administration the drug will be eliminated.

Introduction

Diabetic foot ulcer is one of the most common problems occurred in diabetic patients, leading to significant disability and reduced quality of life such as amputation. Various factors are involved in the pathogenesis and occurrence of diabetic foot ulcers.⁽¹⁾ Decreased neovascularization caused by impaired activity of the transcription factor hypoxia inducible factor-1 alpha (HIF-1 α) is a major factor. Based on the pathogenesis, new methods are needed to effectively manage and treat diabetic wounds. Deferoxamine mesylate [DFO], a strong iron-chelating agent, increases HIF-1 α transactivation by preventing iron-catalyzed reactive oxygen stress⁽²⁾, so it can be used to improve ulcer healing in diabetic people. It is also one of the rare medicines available at clinic used in iron poisoning to remove excess iron from the body and in thalassemia patients associated with the problem of iron cumulated in the body. Less than 15% of the drug is absorbed through the gastrointestinal tract, so it is used via injection.^(3,4)

Unfortunately, DFO has two main problems limiting its clinical application in many cases. The first problem is the short plasma half-life (below 90 minutes) that makes it inevitable to be applied in repeated doses or in the form of continuous and long-time injection. Secondly, it may cause acute or chronic poisoning that the latter is more likely to occur due to the necessity of long-term application of the drug in thalassemia and similar patients.⁽⁵⁾

On the other hand, its oral dosage form has been studied in which some gastrointestinal side effects such as nausea, vomiting, and abdominal pains have occurred in one third of subjects. Skin rash is also one of the side effects in both injection and oral administrations.^(6,7) Acute renal failure is the most important considerable side effect of this medicine. In addition, it can be used in diabetic foot ulcer since it is discovered that due to the raise of glucose inside cells, activation of destroying mechanisms, like the production of free radicals, takes place. On this occasion, iron ion as a cofactor, has an important role in the conversion of superoxide free radical to poisonous hydroxyl radical, so avoids the continuation of destructive reactions and improves angiogenesis.^(8,9)

Taking into account instances mentioned above, seems that by providing and applying topical DFO loaded in solid lipid nanoparticles [SLN], we can produce a high concentration of it on diabetic ulcers in order to both eliminate injection problems and avoid systemic side effects of the drug. Considering the role of skin lipids in the barrier system, lipid-based carriers such as solid lipid nanoparticles can exchange the skin lipid resulting in improving dermal penetration.⁽¹⁰⁾

Solid Lipid Nanoparticles, which were first mentioned in 1991, are colloidal lipid carriers, very much like nanoemulsions, but differing in lipid nature. SLNs are obtained from physiological-like lipids and surfactants which are GRAS (Generally Recognized As Safe), free of toxicity. SLNs have a number of advantages over traditional colloidal systems, such as physical stability, protection of the active substance against chemical degradation, controlled release of the active substance, biocompatibility, selective targeting, absence of organic solvents, and easy to scale up and sterilize.⁽¹¹⁻¹³⁾ Solid lipid nanoparticles are attractive not only in the pharmaceutical industries but also in cosmetics and food industries.⁽¹⁴⁻¹⁶⁾

SLNs combine the advantages and avoid the disadvantages of other colloidal carrier systems such as liposomes and polymer nanoparticles. They could prolong the residence time of the dosage form at the absorption site, consequently increasing bioavailability. Controlled drug delivery, enhanced bioavailability of entrapped drugs and/or improved tissue distribution, good tolerability, and drug targeting have been attributed to SLN formulations.⁽¹⁷⁾

Due to such capability of solid lipid nanoparticles in long-term keeping of drug on injured skin and avoiding application of medicine in the form of injection or edible medicine and consequent prevention of attributed side effects, it was aimed to formulate DFO in the form of solid lipid nanoparticles and to study its physicochemical properties such as particle size and size distribution, entrapment efficiency, profile release, thermal behavior. The main objective of this study was to entrap DFO in solid lipid nanoparticles and investigate the characteristics of drug loading and release. Such particles, due to their nature, will remain for a long time on the applied area and will provide a slow-released and long action. Then, it is aimed to optimize the best formulation of the drug to provide conditions for studying on diabetic ulcers in future studies.

Materials and methods

Deferoxamine mesylate powder was purchased from Tolid Daru company (IR Iran), tween 80, PG, oleic acid, cholesterol, lecithin were obtained from Merck (Germany), span 20 were purchased from Pouyesh Kimia Gostar (IR Iran), cellulose acetate membrane was purchased from Tooba company (IR Iran), and compritol® 888 ATO (glyceryl behenate) was a gift from Gattefosse Pharmaceuticals Company (France). All chemicals and solvents were of analytical grade. Fresh double-distilled water was used in the experiments. Minitab16 software was used for experimental design and evaluation of the effect of variables on responses.

Assay of drug

For measurement, the drug loaded/released from formulations, a standard curve was plotted by preparing 6 solutions in different concentrations of the drug in phosphate buffer, pH=7.4, using a UV-visible spectrophotometer (CE250, CECIL, England) at 220 nm wavelength.

Experimental Design

To evaluate the effect of type of surfactant and type/amount of lipid, full factorial experimental design was applied. Based on this, 16 formulations in triplicate were prepared. The independent variables included the percentage of total lipid phase (%L), Liquid lipid to Solid lipid ratio (LL/SL), type of surfactant, and type of lipid.

Preparation of deferoxamine-loaded SLNs

SLNs were prepared using an emulsion-congealing technique by cold high-pressure homogenization. The lipid phase consisted of a liquid oil (oleic acid), a solid lipid (cholesterol or comperitol 888 ATO), and a surfactant (Tween 80 + Span 20, 1:1, or lecithin); the aqueous phase composed of water and 50 mg DFO. The amounts of lipids and surfactants were varied according to factorial design presented in Table 1. The oil phase was melted at 65°C, added to the aqueous phase at the same temperature and mixed for 3 minutes at speed of 12000 rpm using a high-speed homogenizer (Heidolph, Germany) to obtain a clear medium. Afterward, the mixture was further treated with sonication (90 W for 2 min); the emulsion was then diluted and congealed by adding a mixture of 4:1 water-propylene glycol to reach a final volume of 50 ml. The final concentration of DFO was 1mg/ml according to some studies. Finally, the suspension was passed through a high-pressure homogenizer (Emulsiflex-C3, Avestin, Canada) for 3 cycles (20 seconds for each cycle) at 1000-2000 bars.⁽¹⁸⁻²⁰⁾

Table 1. Independent variables and their levels

Variable	High level	Low level
Lipid	Cholesterol + oleic acid (90:10)	Comperitol + oleic acid (90:10)
%L	90%	80%
Surfactant	Tween 80 + Span 20 (1:1)	Lecithin
LL/SL	20:80	10:90

%L: Percentage of total lipid phase, LL/SL: Liquid lipid to Solid lipid ratio

Measurement of particle size

Particle size analyzer instrument (Malvern, Master SIZER 2000) was used to evaluate particle size and size distribution. Samples were diluted with a determined double-distilled water.

Determination of drug entrapment efficiency [EE%]

To do this, 5 ml of each formulation was centrifuged at 12000 rpm for 10 minutes. After separation the particles, they were precisely rinsed with water, and then the amount of unloaded drug was measured in the watery part at 220 nm wavelength. To calculate the entrapment efficiency, the following equation was applied:

$$EE\% = \frac{(Total\ drug\ used - Unloaded\ drug) * 100}{Total\ drug\ used}$$

Study of release profile of drug

Static Franz Diffusion Cell System was used to determine the profile of release of entrapped drug in nanoparticles. To do this, a predetermined weight of each formulation was put in the donor part of the diffusion cell. Phosphate buffer, pH 7.4, was used as the recipient phase. The donor and the recipient units were separated with cellulose acetate membrane having a cut-off of 10 kDa. The temperature and speed of stirring the recipient phase were adjusted on 37 ± 0.5 °C and 200 rpm, respectively. Sampling was carried out by withdrawal of 2 ml from the recipient phase at time intervals of 0.5, 1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 12, 24, 36, 48, and 72 hours after starting the procedure. After each sampling, 2 ml of phosphate buffer was immediately added into the recipient to remain the volume equable. The cumulative amount of released drug was plotted versus time to obtain the release profile.

Thermal Behavior of Nanoparticles

To study the thermal behavior of nanoparticles, Differential Scanning Calorimetry (METTLER TOLIDO, Switzerland) was used through two profiles including heating (from +10 to +120° C) and cooling (from +30 to -60° C). Phase transitional temperature and enthalpy were determined and analyzed for each formulation.

Statistical Methods

Each formulation was prepared in triplicate, so the total numbers of formulations were 48. To analyze data, the Two-Way Analysis of Variance statistical test (ANOVA) was used to compare characteristics of formulations. In addition, for the study of the relationship between variables and responses, concurrent multiple regression was carried out. P-value equal to or less than 0.05 was considered as significant correlation in all experiments.

Results

Particle size

The particle size ranged from 2.88 to 174 nm for all formulations as shown in Figure 1.

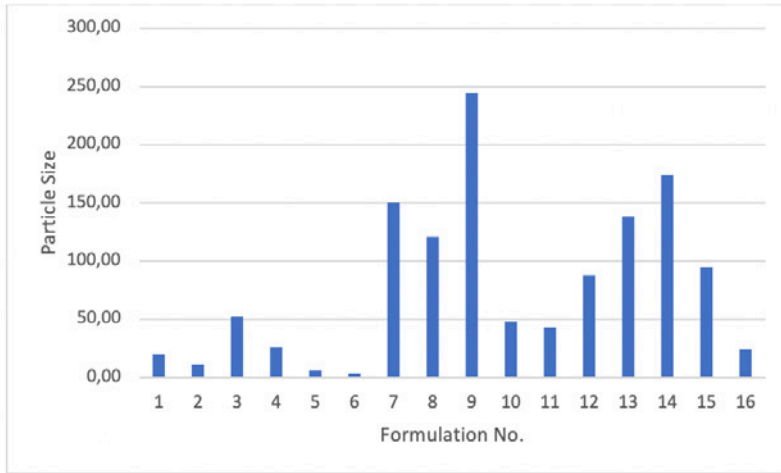


Figure 1. Particle size for all formulations

The results show that most particles are less than 100 nm, so the method used to prepare formulations had been properly able to produce nanoparticles. However, it has been no significant correlation between variables and particle size. Furthermore, it was found the average of 0.344 for polydispersity index that indicates a narrow size distribution in all formulations regardless particle size.

Drug Entrapment Efficiency

Determination of drug loaded in nanoparticles was assessed for all formulations. Figure 2 shows the drug loading percentage of SLN formulations.

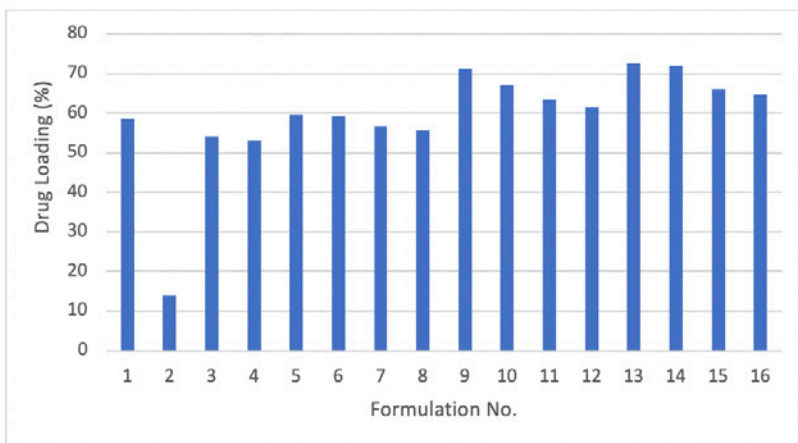


Figure 2. Percentage of drug loading for all formulations

As shown, except formulation No. 2, all other formulations had more than 53% of entrapment efficiency. This means that the contents of formulations were effective on the loading of drug. The average

loading for all formulations was about 60% which is considerable for DFO as a hydrophilic drug. Analysis of regression between variables and %EE identifies a significant correlation between lipid content and drug loaded in particles ($p=0.014$). Changing the solid lipid from cholesterol to Compritol[®], resulted in an increase in the loading percentage. Based on regression analysis, none of the other variables did significantly affect %EE ($P>0.05$). Compritol, Glyceryl behenate, a high melting point glyceride with a less-ordered crystal lattice, is appropriate for use in dosage forms as a lipid matrix to increase drug entrapment and to modify (sustain or delay) the release of active ingredients.⁽²¹⁾ It is safe and useful for increasing consistency and thickness for topical formulations. On the other hand, the lowest loading belongs to formulation No. 2 and the highest one belongs to No. 13. The latter includes Compritol and the higher level of LL/SL ratio which agrees with many of reports. According to these reports, the incorporation of liquid oil into solid lipid nanoparticles leads to increase crystal disorder and consequently results in great failure in the lattice and leaves more space to house the drug.^(22,23)

Drug release profile

The drug release profile from SLNs is dependent on the preparation temperature, composition of emulsifier, and percentage of oil, especially liquid one, incorporated in the lipid matrix.⁽²³⁾

Since one of the objectives of this study was to provide a slow release formulation to prolong the effect, the two factors %R2h and %R72h were considered as indices for slow-release and sustained-release. The in vitro drug release profiles of SLN formulations consisted of an initial burst release followed by a sustained and slow release. The averages release after 2 and 72 hours were 15.06% and 55.54%, respectively.

Analysis of regression showed that both indices %R2h and %R72h had a significant direct correlation with %L, lipid content, and surfactant type ($P=0.001$), but a significant indirect correlation with LL/SL ($P=0.001$). Except for one, for all other formulations the average of %R2h was 20 percent and some of the formulations had released more than 60 percent of loaded drug after 48 and consequently 72 hours. Such profile is appropriate for a formulation which had been purposed for prolonged drug delivery. Besides, considering the initial burst release and followed by sustained release from formulations, it could be said that the drug is incorporated homogeneously, partially loaded in shell, interfacial and lipid core.⁽²⁴⁾ This is in accordance with Ramteke K.H et al which reported the drug was homogeneously loaded in particles using cold homogenization technique.⁽¹⁸⁾

Figure 3 represents the cumulative percentage of drug released from all formulations after 2, 8, 48, and 72 hours, graphically.

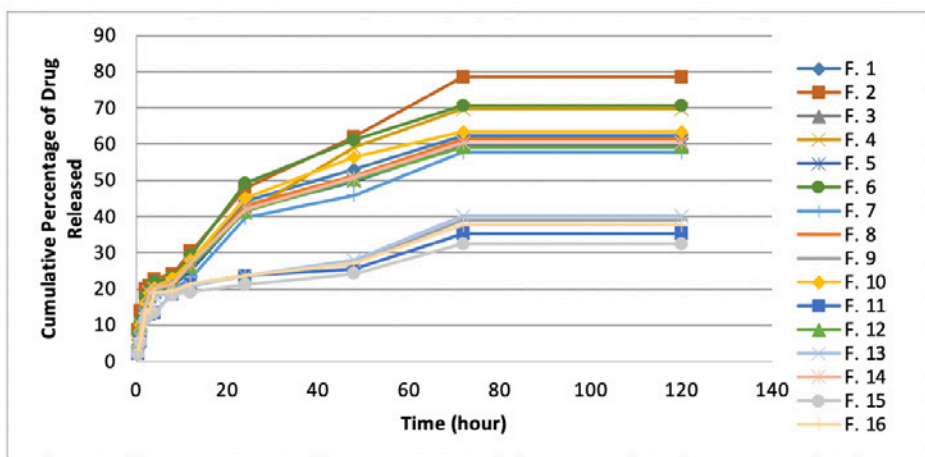


Figure 3. Profile of release drug from all formulations

Differential Scanning Calorimetry

DSC gives data from thermal behavior including melting and recrystallization of the solid lipids in SLNs. Various lipids have different melting points and enthalpies. The crystallinity degree of nanoparticles decreases with increasing liquid lipid ratio in the particles.⁽²³⁾ The liquid oil existing in lipid matrix is the main factor lowering the crystallinity and increasing the less-ordered structure of SLNs.

Table 2 presents the DSC results for SLN formulations through both heating and cooling manners.

Table 2. DSC results of SLN formulations

Formulation No.	ΔH		Phase Transitional Temp.	
	Cooling	Heating	Cooling	Heating
1	115.4	-471	-25	114
2	80.9	-709.3	-29	101
3	216.3	-132.72	-23	90
4	46.1	-584.2	-31	117
5	30.148	-224.1	-35	114
6	442	-425.28	-15	123
7	85.18	-872.2	-24	118
8	65.8	-616.07	-22	115
9	90.6	-656.8	-23	110
10	32.8	-264.78	-29	119
11	44.5	-578.23	-26	70
12	58.83	-580	-25	83
13	56.89	-420.7	-29	68
14	87.7	-451.1	-24	90
15	72.23	-541.13	-29	72
16	64.23	-870.4	-32	110

As shown in heating program, the phase transitional temperature of 68 °C, the lowest one, belongs to formulation No. 13 containing cholesterol and lower level of LL/SL ratio. The highest one, 123 °C, belongs to No. 6 which consisted of Compritol and the higher level of LL/SL ratio. This result is compatible with loading results. According to Chia-Lang Fang and et al, the decline of enthalpy and reduction of the melting point of the lipids occur in the SLNs with smaller size, higher surface area and a greater number of emulsifiers.⁽²³⁾ Figure 4 represents 2 samples of DSC thermograms for formulation No. 8.

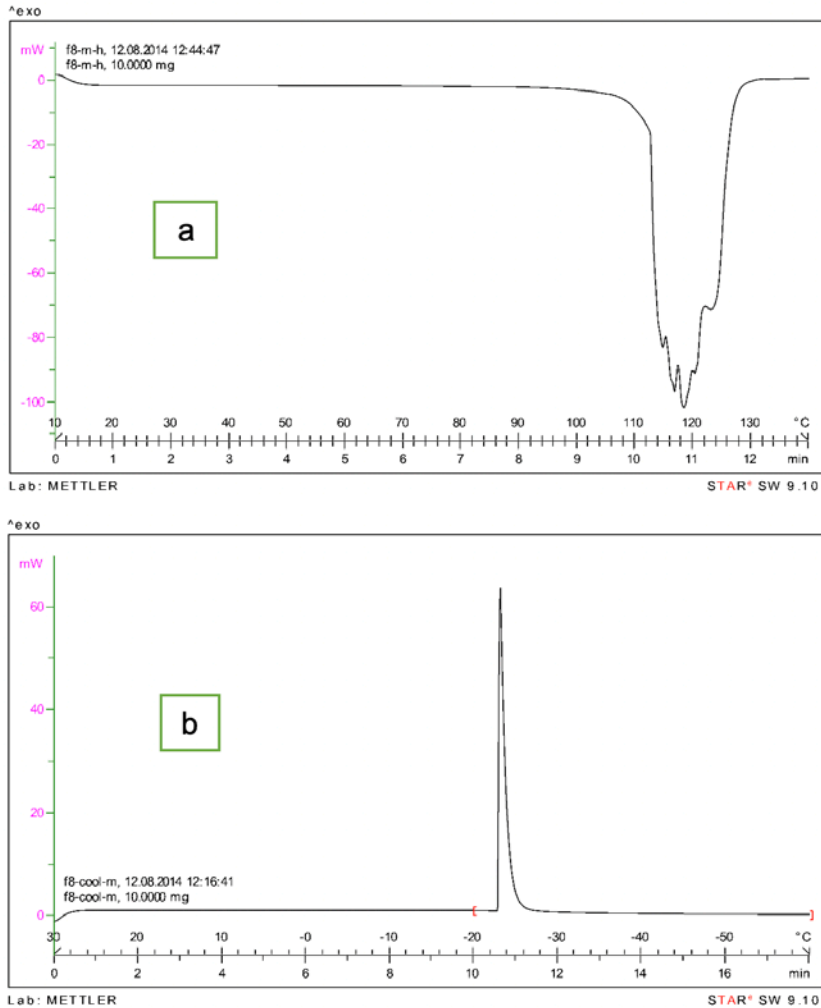


Figure 4. DSC Thermograms of formulation No. 8: a. heating, b. cooling

Discussion

The present study was designed to prepare a topical formulation of deferoxamine based on solid lipid nanoparticles. Such formulation can be used on diabetic foot ulcers to improve angiogenesis by removing iron ions and hence avoid the side effects of oral or repeated injectable deferoxamine as well as overcome the problem of short plasma half-life and poor bioavailability of the drug. Selection of SLNs for drug delivery was based on their ability to protect the drug from destructive environmental factors and provide sustained-release condition. Despite numerous benefits of SLNs, one of their disadvantages may be the low loading capacity due to the crystalline structure of solid lipids. The use of oleic acid, as results showed, overcame the drawback because of its less-ordered structure. Comperitol, compared to conventional solid lipids, has a higher melting point so that formulations containing Comperitol released the drug in a sustained manner. According to many reports, the minimized particle size and narrow size distribution can be obtained by applying high pressure homogenization technique.^(14,22) The particle size in the majority of formulations prepared at the present study was accordance with the

reports. On the other hand, the application of cold homogenization technique was according to Rainer et al study in which the cold method was suggested for hydrophilic drugs to avoid partitioning the drug between the melted lipid and water phase during the hot homogenization. Relative high loading of deferoxamine in all formulations confirmed the suggestion. During cold homogenization method propylene glycol helps particles be spherical so provide the highest surface areas required for better loading and release of drug. It also increases loading capacity by preventing the loss of hydrophilic drug due to partitioning the drug into the water phase.^(1,2)

Conclusion

deferoxamine mesylate, as a strong chelating agent, is used to remove excess iron from the body in poisoning cases and thalassemia patients. Since it must be injected repeatedly, so its adverse effects are unavoidable. There are some reports in which the beneficial effects of this drug on diabetic ulcers have introduced when applied locally. On the other hand, administration the drug using conventional dosage forms cannot provide a slow-release condition to avoid repeated use. According to the purpose of the study and considering all the results obtained for different formulations, formulation No. 13, which has a high level of drug loading and the lowest drug release rate, can be introduced as the best formulation. This formulation contained compritol and oleic acid in the amount of 8% of the total formula, as well as tween 80 and lecithin as a mixture of surfactants. This study showed that deferoxamine may be loaded in solid lipid nanoparticles to provide desired conditions. However, this requires evaluating drug-loaded SLNs in ex-vivo and in-vivo conditions to achieve other properties such as permeation capability through intact and ulcerated skin.

Acknowledgment

The authors thank Vice Chancellor for Research Affairs at AJUMS for financial supports.

References

1. Yih-Kuen Jan, Shen Sa, Robert D. Foreman, William J. Ennis. Skin blood flow response to locally applied mechanical and thermal stresses in the diabetic foot. *Microvasc Res.* 2013; 89: 40–46. Doi:10.1016/j.mvr.2013.05.004
2. Dominik D, Evgenios N, Victor W. Wong, Zeshaan N. Maan, Robert C. Rennert, Inayathullah M, et al. Transdermal deferoxamine prevents pressure-induced diabetic ulcers. *PNAS* 6, 2015; 112 (1): 94-99. Doi:10.1073/pnas.1413445112.
3. Iranian National Formulary, 4th Edition, Spring 86, 2005. 6 p. [Persian]
4. David B. Hom, George S. Goding, Jr, Julie A. Price, Kerri J. Pernell, Robert H. Maisel. The effects of conjugated deferoxamine in porcine skin flap. *John Wiley & Sons, Inc. Head Neck* 2000; 22: 579-84.
5. Dragsten PR, Hallaway PE, Hanson GJ, Berger AE, Bernard B, and Hedlund Bo E. First human studies with a high-molecular-weight iron chelator. *J Lab Clin Med* 2000; 57-65.
6. Lazaridou M, Christodoulou E, Nerantzaki M, Kostoglou M, Dimitra A Lambropoulou, Katsarou A, et al. Formulation and In-Vitro Characterization of Chitosan-Nanoparticles Loaded with the Iron Chelator Deferoxamine Mesylate (DFO). *Pharmaceutics* 2020; 12: 238. doi: 10.3390/pharmaceutics12030238.
7. Hejazi S, Safari O, Arjmand R, Qorbani M, Pourrostami K, Safari AM, et al. Effect of Combined versus Monotherapy with Deferoxamine and Deferiprone in Iron Overloaded Thalassemia Patients: a Randomized Clinical Trial. *Int J Pediatr.* 2016; 4 (6): 1959-65.
8. Thanh D, Tecilizich F, Kafanas A, Doupis J, Gnardellis C, Leal E, et al. Mechanisms Involved in the Development and Healing of Diabetic Foot Ulceration. *Diabetes.* 2012; 61: 2937-47. doi:10.2337/db12-0227

9. Warren Clayton JR, Tom AE. A review of the pathophysiology, classification, and treatment of foot ulcers in diabetic patients. American Diabetes Association (R) Inc 2009.
10. K uchler S, Radowski Michal R, Blaschke T, Dathe M, Plendl J, Haag R, et al. Nanoparticles for skin penetration enhancement – A comparison of a dendritic core-multishell-nanotransporter and solid lipid nanoparticles Eur J Pharm Biopharm. 2009; 71: 243-50. doi:10.1016/j.ejpb.2008.08.019.
11. Mehnert W, Mader K. Solid lipid nanoparticles Production, characterization and applications. Ad Drug Del Rev. 2012; 47: 165-96. doi:10.1016/j.addr.2012.09.021
12. Rainer H. Mu ller, Ma der K, Gohla S. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery – a review of the state of the art. Eur J Pharm Biopharm. 2000; (50): 161–77.
13. Jee J-P, Lim S-J, Jeong-Sook Park, Chong-Kook Kim. Stabilization of all-trans retinol by loading lipophilic antioxidants in solid lipid nanoparticles. Eur J Pharm Biopharm. 2006; 63: 134-39. doi:10.1016/j.ejpb.2005.12.007.
14. Wissing SA, Kayser O, Mu ller RH. Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. Adv Drug Deliv. Rev. 2004; 56: 1257-72. doi:10.1016/j.addr.2003.12.002.
15. Wissing SA, M ller RH. Cosmetic applications for solid lipid nanoparticles (SLN). Int J Pharm. 2003; 254: 65-68. doi:10.1016/S0378-5173(02)00684-1.
16. Weiss J, Decker Eric A, McClements D Julian, Kristbergsson K, Helgason T, Awad T. Solid Lipid Nanoparticles as Delivery Systems for Bioactive Food Components. Food Biophysics 2008; 3: 146-54. doi:10.1007/s11483-008-9065-8.
17. Coppert TM, Muller RH. Adsorption kinetics of plasma proteins on solid lipid nanoparticles for drug targeting. Int J Pharm. 2005; 302: 172-86. doi:10.1016/j.ijpharm.2005.06.025.
18. Ramteke K.H, Joshi SA, Dhole SN. Solid Lipid Nanoparticle: A Review. IOSR J Pharmacy. 2012; 2 (6): 34-44.
19. Sanaa A. El-Gizawya, Ahmed Nouhb, Sameh Saberc, Ahmed Y. Kira. Deferoxamine-loaded transferosomes accelerates healing of pressure ulcers in streptozotocin-induced diabetic rats. JDDST. 2020; 58: 101732. doi:10.1016/j.jddst.2020.101732
20. Si-Qian G, Chen Ch, Jun-Jun L, Ying L, Xiao-Qian N, Dan-Ping Zh, et al. Co-delivery of deferoxamine and hydroxysafflor yellow A to accelerate diabetic wound healing via enhanced angiogenesis. Drug Deliv. 2018; 25 (1): 1779-89. doi:10.1080/10717544.2018.1513608
21. Muller-Goymann CC. Physicochemical characterization of colloidal drug delivery systems such as reverse micelles, vesicles, liquid crystals and nanoparticles for topical administration. Eur J Pharm Biopharm. 2004; 58: 343-56. doi:10.1016/j.ejpb.2004.03.028.
22. Mukherjee S, Ray S, Thakur RS. Solid Lipid Nanoparticles: A Modern Formulation Approach in Drug Delivery System. Indian J Pharm Sci. 2009;71(4): 349-58.
23. Fanga CL, Al-Suwayehb SA, Fang JY. Nanostructured Lipid Carriers (NLCs) for Drug Delivery and Targeting. Recent Pat Nanotechnol. 2013; 7: 41-55.

doi: 10.30827/ars.v62i3.W

Artículos originales

Probabilidad de experimentar estrés oxidativo en profesionales de la salud de la ciudad de Lima

Probability of experiencing oxidative stress in health professionals from Lima city

Miriam Gutiérrez-Ramos¹  0000-0002-7982-5165

Katherine Carrera-García¹  0000-0001-9397-4039

Leydi de la Cruz-Rodríguez¹  0000-0002-1333-8479

Lennin Rodríguez-Saavedra^{2,3}  0000-0001-8377-6434

¹Universidad Nacional de Trujillo, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Departamento de Bioquímica, Trujillo, Perú.

²Universidad Nacional de Trujillo, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Departamento de Farmacotecnia, Trujillo, Perú.

³Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Lima, Perú.

Correspondencia

Miriam Gutiérrez-Ramos
mgutierrezr@unitru.edu.pe

Received: 27.08.2020

Accepted: 28.03.2021

Published: 21.06.2021

Financiación

Sin financiación.

Conflicto de intereses

Los autores dejan constancias que no existe ningún tipo de conflicto de intereses con la investigación realizada y los resultados expresados en el presente artículo.

Resumen

Introducción: El ser humano mantiene un balance de óxido-reducción constante, preservando el equilibrio entre la producción intermediarios que se generan como resultado del metabolismo celular para su buena marcha abasteciendo de nutrientes necesarios en cantidades pertinentes, la pérdida del buen funcionamiento conlleva a un desequilibrio por acumulo de compuestos que son producto de las reacciones que al formarse en exceso desbordan las cantidades necesarias por factores o causales externos o internos dando lugar a un cambio que conlleva a un estado de estrés oxidativo.

Objetivo: Determinar la probabilidad de experimentar estrés oxidativo en profesionales de la salud de la ciudad de Lima.

Método: Estudio descriptivo de corte transversal de profesionales de la salud de 39 a 70 años de ambos sexos de la ciudad de Lima, luego de la firma del consentimiento informado, se aplicó un cuestionario de la probabilidad de experimentar estrés oxidativo, para obtener información de edad, género, índice de masa corporal, presión arterial, estilo de vida y situaciones complejas. Cada pregunta contenía alternativas a elegir con puntuación. Posteriormente se realizó la cuantificación respectiva sumando los valores y determinando la probabilidad de experimentar estrés oxidativo, según la puntuación obtenida: entre 0 y 30 poca probabilidad, entre 31 y 50 probabilidad baja o media, superior a 50 gran probabilidad.

Resultados: Luego de procesados los resultados, se determinó que el 16% tienen mínimas probabilidades de sufrir estrés oxidativo (10.71% de mujeres y 5.36% de hombres), el 79.46% bajas o medias (42.86% mujeres y 36.61% hombres) y el 4.46% altas probabilidades (2.68% mujeres y 1.79% hombres). el 16% tiene mínimas probabilidades de sufrir estrés oxidativo, el 79,46% bajas o medias y el 4,46% altas probabilidades. Se usó la prueba de Xi cuadrado $1-\alpha=95\%$, $\alpha=0.05$ de no existir una relación significativa entre las variables Se rechaza la hipótesis alternativa.

Conclusiones: La probabilidad de experimentar estrés oxidativo en los profesionales de salud es baja.

Palabras clave: Estrés oxidativo; profesionales de la salud; índice de masa corporal.

Abstract

Introduction: The human being maintains a constant oxide-reduction balance, preserving the balance between the production of intermediates that are generated as a result of cellular metabolism for its proper functioning, supplying necessary nutrients in relevant quantities, the loss of proper functioning leads to an imbalance due to accumulation of compounds that are the product of reactions that, when formed in excess, exceed the necessary quantities due to external or internal factors or causes, giving rise to a change that leads to a state of oxidative stress.

Objective: To determine the probability of experiencing oxidative stress in health professionals in the city of Lima.

Method: Descriptive cross-sectional study of health professionals aged 29 to 70 years of both sexes from the city of Lima, after signing the informed consent, a questionnaire on the probability of experiencing oxidative stress was applied, to obtain information on age, gender, body mass index, blood pressure, lifestyle and complex situations. Each question contained alternatives to choose from with scoring. Subsequently applied, the respective quantification was carried out adding the values and determining the probability of experiencing oxidative stress, according to the score obtained: between 0 and 30 little probability, between 31 and 50 low or medium probability, greater than 50 high probability.

Results: After processing the results, it was determined that 16% have minimal probabilities of suffering oxidative stress (10.71% of women and 5.36% of men), 79.46% low or medium (42.86% women and 36.61% men) and 4.46% high probabilities (2.68% women and 1.79% men). 16% have minimal probabilities of suffering oxidative stress, 79.46% low or medium and 4.46% high probabilities. The Xi square test was used $1-\alpha=95\%$, $\alpha=0.05$ if there was no significant relationship between the variables The alternative hypothesis was rejected.

Conclusions: The probability of experiencing oxidative stress in health professionals is low.

Keywords: Oxidative stress; healthcare professionals; body mass index.

Puntos Claves

El estrés oxidativo se presenta por aumento de radicales libres, debido a situaciones diversas en la que está expuesto el organismo, afectando las funciones que se llevan a cabo diariamente, siendo con el tiempo causa de variadas enfermedades. El tener en cuenta las situaciones de exposición y poder llegar a controlarlas o evitarlas permitirán un mejor desarrollo de actividades logrando mantener un estado óptimo.

Introducción

Los radicales libres, causales de estrés oxidativo, son sustancias capaces de una existencia independiente, que contiene uno o más electrones no apareados, se producen en diferentes reacciones exergónicas en que el oxígeno es aceptor de electrones y endergónicas se incorpora grupo fosfato para obtener energía. Son muy inestables, altamente reactivos y de vida media corta. Su presencia genera una cadena de reacciones de transferencia de electrones con las moléculas vecinas^(1,2).

El estrés oxidativo es un desequilibrio que afecta al organismo por aumento de radicales libres, siendo factor de origen de enfermedades que alteran en bienestar de la persona al padecerlas y con el tiempo van afectando en mayor proporción⁽³⁾.

Este desequilibrio y predominio de los radicales libres se debe a múltiples causas: las endógenas (producidas por el propio organismo en su funcionamiento) como la respiración mitocondrial; la activación de polimorfonucleares; el metabolismo de ácido araquidónico; las acciones enzimáticas, entre otras. Las exógenas, se deben a factores externos: contaminación ambiental; obesidad, sedentarismo, hábitos tóxicos; estrés prolongado; desconocimiento nutricional; exposición indebida al sol o a diversas enfermedades^(8,11,12).

El organismo está naturalmente dotado de una función antioxidante, posee compuestos que pueden neutralizar a los radicales libres y limitar la reacción en cadena, manteniendo la estabilidad, previenen, retardan o minimizan la oxidación y el daño por el estrés oxidativo^(4,5).

Los mecanismos antioxidantes conforman un complejo primario de defensa, compuesto fundamentalmente por la catalasa, la superóxido dismutasa, y las enzimas del ciclo redox del glutatión y un complejo secundario, en el que se integran sustancias de diversas características morfoquímicas^(6,7). Antioxidantes enzimáticos menos estudiados (pero probablemente muy importantes) son la peroxirredoxina y la sulfirredoxina. Otros enzimas que tienen propiedades antioxidantes (aunque esta no es su función primordial) incluyen la paraoxonasa, el glutatión-S-transferasa, y el aldehído deshidrogenasa⁽⁸⁾.

Los diferentes tejidos y órganos de los seres vivos presentan una sensibilidad también diferente a la acción de los radicales libres, lo que ocasiona cambios en el funcionamiento metabólico del organismo y que a su vez debido a la gran variedad de elementos con capacidad antioxidante van a contrarrestar los efectos de los sistemas de protección los antioxidantes que se encuentran en las distintas estructuras^(9,10).

Los profesionales de la salud por la labor que realizan cotidianamente en la atención de pacientes y en su entorno familiar, están expuestos a trabajo bajo presión lo que puede ser causa de desequilibrio del buen funcionamiento del organismo dando lugar a la presencia de estrés oxidativo que con el tiempo origina patologías silenciosas.

Diversas investigaciones realizadas a la actualidad el estrés oxidativo está asociado a patologías silenciosas que se logran determinar cuándo se encuentran en estado avanzado causando graves daños. Por lo que es de suma importancia el lograr determinar la probabilidad de experimentar estrés oxidativo considerando las características sociodemográficas, estilos de vida y situaciones complejas y fomentar el cuidado de las personas, propiciando una buena calidad de vida y prevención de múltiples enfermedades que se pueden producir, evidenciando que al estar expuesto a diferentes características y situaciones complejas originan estrés oxidativo.

Método

Estudio descriptivo de corte transversal, muestreo aleatorio simple, 112 profesionales de la salud de ambos sexos, de la ciudad de Lima del distrito de Jesús María en Diciembre 2017, luego de la firma del consentimiento informado, se aplicó un cuestionario de la probabilidad de experimentar estrés oxidativo⁽¹²⁾, para obtener información de edad considerada 39 – 70 años, género, índice de masa corporal, presión arterial, estilo de vida y situaciones complejas. Cada pregunta contenía alternativas a elegir con puntuación. Posteriormente se realizó la cuantificación respectiva sumando los valores y determinando la probabilidad de experimentar estrés oxidativo, según la puntuación obtenida: entre 0 y 30 poca probabilidad, entre 31 y 50 probabilidad baja o media, superior a 50 gran probabilidad.

Se llevó a consideración criterio de inclusión profesionales de salud de ambos sexos de edad entre 30 a 70 años y criterio de exclusión profesionales de salud en estado de gestación, con tratamiento farmacológico.

Los datos obtenidos de la encuesta fueron procesados estadísticamente¹³ mediante medidas para los datos normales (porcentajes), también se aplicó la prueba de tipo Chi Cuadrado con nivel de significancia del 95% ($\alpha=5\%$).

Para la muestra se aplicó la siguiente fórmula:

$$n = \frac{N \times Z^2 \times p \times q}{E^2 \times (N - 1) + Z^2 \times p \times q} = 91 \quad \text{Participaron 112 voluntarios}$$

n: Tamaño de la muestra

Z: valor de la distribución normal estandarizado (1.96)

P: proporción de la población que tiene las características que es de interés para medir (0.50)

Q: (1-P) Proporción de la población que no tiene las características que interesa medir (0.50)

N: Tamaño de la población (1800)

E: Máximo error permisible (0.1)

Resultados

Tabla 1. Distribución numérica y porcentual de parámetros según sexo, edad, índice de masa corporal y presión arterial en los profesionales de la salud de la ciudad de Lima

Parámetros		N°	%
Sexo	Masculino	49	43,75
	Femenino	63	56,25
Edad	30 - 39	31	27,68
	40 - 49	28	25,00
	50 - 59	42	37,50
	60 - 70	11	9,82
Índice de masa corporal	Normal	54	48,21
	Sobrepeso	58	51,79

Parámetros		N°	%
Presión arterial	Normal	47	41,96
	Hipertensión	65	58,00

Tabla 2. Distribución numérica y porcentual del consumo de alcohol, cigarros y agua en los profesionales de la salud de la ciudad de Lima

Consumo		N°	%
Alcohol	No bebo	62	55,36
	Un vaso de vino tinto (o una cerveza de 25ml)	49	43,75
	2 vasos/día	1	0,89
Cigarros	No fumador	103	91,96
	Menos de 10 cigarrillos al día	9	8,04
Agua	Mineral en botella	37	33,04
	Tanto agua del grifo como agua mineral	46	41,07
	Solamente agua de grifo	29	25,89

Tabla 3. Distribución numérica y porcentual de condiciones de exposición: al sol, coloración de cabello y uso de prendas limpias en seco en los profesionales de la salud de la ciudad de Lima

Condiciones de exposición		N°	%
Al sol	Nunca	5	4,46
	Unos diez días al año	4	3,57
	Un mes al año	15	13,39
	Dos o tres meses al año	65	58,04
	Tres o cuatro meses al año	17	15,18
	Más de cuatro meses al año	6	5,36
Coloración en el cabello	Nunca	70	62,50
	Un mes al año	4	3,57
	Tres o cuatro meses al año	2	1,79
	Más de cuatro meses al año	36	32,14
Uso prendas limpias en seco	Nunca	42	37,50
	En escasas ocasiones durante el año	42	37,50
	Varias veces durante el mes	25	22,32
	Varias veces durante la semana	3	2,68

Tabla 4. Distribución numérica y porcentual de parámetros de tipo de vivienda, entorno en el que vive, modo de cocción de los alimentos y uso de horno en profesionales de la salud de la ciudad de Lima

Parámetro		N°	%
Vivienda	Construcción > 5 años	96	85,71
	Construcción reciente (< 5 años)	9	8,04
	Construcción nueva o reformada (- un año)	7	6,25
Entorno en el que vive	En una gran ciudad (más de 200 000 habitantes)	112	100

Parámetro		N°	%
Modo de cocción	Siempre con agua	22	19,64
	Más bien con agua	68	60,71
	Con frecuencia frito	16	14,29
	Más bien frito	6	5,36
Horno	Electricidad	2	1,79
	Leña	2	1,79
	Gas	108	96,43

Tabla 5. Distribución numérica y porcentual de utiliza una campana extractora, detergente, disolventes, pesticidas y enfriadores de aire en profesionales de la salud de la ciudad de Lima

Utiliza	Campana extractora		Detergente		Disolventes		Pesticidas		Enfriadores de aire	
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
Sí	37	33,04	33	29,46	88	79,28	90	80,36	36	32,14
No	75	66,96	79	70,54	23	20,72	22	19,64	76	67,86
TOTAL	112	100,00	112	100,00	111	100,00	112	100,00	112	100,00

Tabla 6. Consumo de alimentos de origen biológico (frutas o verduras), complementos vitamínicos (A,C y E) y oligoelementos naturales (Se, Zn, Ca) en profesionales de la salud de la ciudad de Lima

FRECUENCIA	Alimentos de origen biológico		Frutas y verduras		Complementos vitamínicos		Oligoelementos naturales	
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
Muy a menudo (todos los días)	79	70,54	56	50,00	3	2,68	12	10,71
A menudo (dos o tres veces por semana)	17	15,18	48	42,86	19	16,96	74	66,07
Escasas veces (una vez por semana)	16	14,29	6	5,36	10	8,93	23	20,54
Casi nunca	0	0	2	1,79	80	71,43	3	2,68
TOTAL	112	100,00	112	100,00	112	100,00	112	100,00

Tabla 7. Distribución numérica y porcentual de entorno y forma de vida de los profesionales de la salud de la ciudad de Lima

FRECUENCIA	Sonoro		Contaminación física		Estrés psicológico	
	N°	%	N°	%	N°	%
Tranquilo y silencioso	3	2,68	0	0	0	0
Muy ligeramente	0	0	93	83,04	0	0
Ligeramente	6	5,36	12	10,71	8	7,14
Medianamente	6	5,36	2	1,79	76	67,86
Fuertemente	89	79,46	4	3,57	26	23,21
Muy fuertemente	8	7,14	1	0,89	2	1,79
TOTAL	112	100,00	112	100,00	112	100,00

Tabla 8. Problemas de salud que presenten los profesionales de la salud de la ciudad de Lima

PROBLEMAS DE SALUD	N°	%
Ninguno	99	88,39
Cansancio excesivo, estado depresivo	3	2,68
Alergias frecuentes	2	1,79
Infecciones, inflamaciones crónicas (reumatismo, enfermedad de Crohn)	3	2,68
Cáncer, SIDA, enfermedades cardiovasculares, Parkinson, Alzheimer)	5	4,46
TOTAL	112	100,00

Tabla 9. Probabilidad de sufrir estrés oxidativo los profesionales de la salud de la ciudad de Lima

Sexo	Mínima		Baja o media		Alta		Total		X ²	Significancia
	N°	%	N	%	N	%	N	%		
Femenino	12	19,05	48	76,19	3	4,76	63	100	1,016	1- α =95% α = 0.05, k=2gl, No existe una relación significativa entre las variables. Se rechaza la hipótesis alternativa.
Masculino	6	12,24	41	83,67	2	4,08	49	100		
Total	18	16,07	89	79,46	5	4,06	112	100		

Discusión

Los resultados corresponden a 112 profesionales de la salud de ambos sexos que participaron voluntariamente en responder el cuestionario. En la tabla 1 se evidencia que, en los parámetros de mayor participación en género al femenino, el rango de edad fue 50 a 59 años, además de sobrepeso e hipertensión

Con el transcurso de los años, el individuo comienza a envejecer es un proceso natural inherente a la vida, ocasionando la aparición de cambios irreversibles que afectan a células, tejidos y órganos o a la totalidad del individuo⁽¹⁴⁾. En comparación con otras especies, la oxidación es una reacción natural, en realidad, no es mala de por sí, es esencial para la vida, el proceso descontrolado es el problema ya que a la larga se puede convertir en enfermedad⁽¹⁵⁾ y los niveles tisulares de antioxidantes se ven disminuidos⁽¹⁶⁾.

La obesidad es una enfermedad crónica tratable que se caracteriza por una excesiva acumulación de tejido adiposo o grasa en el cuerpo, que produce inflamación y estrés oxidativo, va asociada actuando como un agravante de otras enfermedades como la diabetes, la hipertensión, apnea del sueño, arterioesclerosis, complicaciones cardiovasculares, etc. Entre las principales causas que determinan la aparición de esta enfermedad se puede situar una alimentación incorrecta, muy rica en grasas saturadas, baja en fibra, pobre en vitaminas, etc. unida a la falta de ejercicio físico, además de factores genéticos, factores socioeconómicos o factores psicológico^(15,16). El sobrepeso coincide con los altos porcentajes a nivel nacional^(17,18).

Según la tabla 2 los profesionales de salud no consumen alcohol, cigarrillos y si agua, lo que permite un control y funcionamiento adecuado del organismo; el consumo de alcohol en el país es bastante

precoz, es mayor entre los hombres que entre las mujeres en todos los ámbitos estudiados, genera enfermedad hepática, favorece el estrés oxidativo y la promoción del daño inflamatorio y fibrótico, los mecanismos responsables del estrés oxidativo inducido incluyen la formación intra hepatocito de las especies reactivas de oxígeno por la cadena respiratoria mitocondrial y la biotransformación^(19,20).

Diferentes estudios han demostrado que la exposición al consumo de cigarro induce un aumento del estrés oxidativo se deben a la gran cantidad de oxidantes presentes en el humo del cigarrillo, así como de especies reactivas liberadas por los leucocitos, tanto en las vías aéreas como en la sangre, pero también el estrés oxidativo desempeña un papel importante en el aumento de la inflamación de las vías aéreas por la activación de factores de transcripción redox-sensibles. También la nicotina provoca un aumento en los niveles de especies de reactivas de oxígeno que causa estrés oxidativo, daña las membranas celulares y tisulares^(21,22).

El agua potable puede contener distintos minerales, iones como cloruros, nitratos, nitritos, amoníaco, calcio, magnesio, fosfato, arsénico, etc. Sin embargo, fuentes revelan que el agua embotellada, específicamente el agua alcalinizada, disminuye el estrés oxidativo por que provoca disminución en la catalasa del páncreas. En el 2012 se hizo un estudio del agua en Lima, donde se demostró que tanto el agua potable como embotellada tenían características similares por lo que su consumo se consideraba saludable^(23,24,25).

En la tabla 3 sobre condición de exposición se tiene que no se exponen al sol, a colorantes de cabello ni a prendas limpias en seco, considerando la labor que realizan, no tienen tiempo de utilizar dichas condiciones de exposición además de los riesgos que producen la presencia de la radiación solar que en una atmósfera rica en oxígeno produce efectos indeseados y perjudiciales sobre la piel. La consecuencia más severa del daño producido por la radiación solar es el cáncer de piel. Se tiene estudios que produce daños severos en la piel siendo causal de deterioro de la salud de la persona⁽²⁶⁾.

Sobre la coloración de cabello nunca lo han expuesto, un reporte de editorial, publicado en 'The British Medical Journal' ('BMJ'), analiza el potencial alergénico de uno de los principales componentes de los tintes de pelo, la p-fenilenediamina y otras sustancias de la familia de las aminas aromáticas llevan más de un siglo presentes en los tintes de pelo y, actualmente, dos de cada tres cuentan con ellos en su composición. El estrés oxidativo se da porque entre los componentes de los tintes de cabello están también el persulfato de amonio, amoníaco, acetona, etanol, butano, etano, propano, y peróxido de hidrógeno. En cuanto al mecanismo la p-fenilenediamina se comporta como un pro hapteno, la oxidación intra epidérmica produce benzoquinona que es la sustancia capaz de producir un ataque nucleofílico y formación de enlaces covalentes. Recientemente se ha demostrado que existe un segundo metabolito capaz de producir una respuesta inmunológica y actuar como hapteno. Se ha demostrado que esta sustancia, denominada base de Bandrowsky (BB), es capaz de inducir activación de los Linfocitos T^(27,28,29).

Además, la mayoría nunca ha usado prendas de vestir limpiadas en seco. El percloroetileno, es más utilizado, altamente oxidante y se cree que es el más estable de todos los clorados de limpieza en seco, como resultado aumenta la producción de radicales libres. Hay cuatro grados de percloroetileno que dependerán de los grados de vapor desengrasante para algunos metales, las calificaciones técnicas para la fabricación de productos químicos y los grados de alta pureza dependen de cada producto y de su función^(30,31,32).

En la tabla 4 sobre el parámetro con mayor de vivienda de más de cinco años en una gran ciudad y su modo de cocción de alimentos es con agua y el uso de horno a gas fueron las respuestas elegidas. Las viviendas nuevas tienen más partículas en suspensión o contaminantes estas pueden ser de metales pesados, hidrocarburos aromáticos y radicales libres, porque son capaces de causar estrés oxidativo, de especial importancia para los asmáticos³³. Al encontrarse en grandes ciudades están expuestos a estrés que combina una serie de trastornos físicos, químicos, biológicos, de seguridad y psico-sociales⁽³⁴⁾, afectando todos los aspectos de la vida cotidiana, desde las relaciones interpersonales hasta la alteración de las funciones digestivas, respiratorias, urinarias, musculares y sexuales^(35,36).

Acerca de la cocción más bien con agua, mayormente en la cocción de los alimentos se debe de tener sumo cuidado por los nutrientes que contienen y minimizar su pérdida para que el organismo pueda

recibir, procesar en forma adecuada los nutrientes y lleven a cabo su función respectiva en el organismo. El consumo de aceites y grasa sometidos a sucesivos calentamientos térmicos influye sobre la peroxidación lipídica plasmática y es mayor cuanto mayor sea el número de calentamientos aplicados, por lo que sería recomendable no abusar del recalentamiento de los aceites utilizados en las frituras⁽³⁷⁾.

El empleo de horno a gas es mejor y recomendable debido a que la exposición crónica de monóxido de carbono proveniente de la combustión de la leña puede provocar altos niveles de estrés oxidativo proceso que ha determinado la presencia de diferentes alteraciones en la función respiratoria y cardiaca, lesiones que lamentablemente son irreversibles⁽³⁸⁾.

En la tabla 5 se tiene que no usa campana extractora, pero es recomendable ya que sirve para eliminar la grasa suspendida en el aire, absorber humos, vapores y olores, filtra todo y lo expulsa evacuando el aire de la estancia donde se encuentre⁽³⁹⁾.

Por otro lado también, se observa que no usan detergente, siendo un producto que contiene sustancias químicas muy potentes como: ácidos, fosfatos fuertes, ácidos base que le otorgan el pH, formándolos en ácidos, neutros o alcalinos, enzimas, estabilizantes, quelantes, blanqueadores, colorantes, solventes, desinfectantes que, tienen la propiedad de disolver la suciedad y las impurezas de un material sin corroerlo⁽⁴⁰⁾.

Y también se tiene que si usan disolventes, los que son compuestos químicos orgánicos volátiles o mezcla líquida, se utilizan solos o en combinación con otros agentes para disolver materias primas, productos o materiales residuales, para la limpieza, modificar la viscosidad, agente tensioactivo, plastificante, conservante o portador de otras sustancias que una vez depositadas, quedan fijadas evaporándose el disolvente, es el responsable de la cuarta parte de los compuestos orgánicos volátiles liberados a la atmósfera, lo que ocasiona importantes problemas de contaminación ambiental⁽⁴¹⁾.

Los que declararon hacer uso de pesticidas en su gran mayoría fueron mujeres quienes están más al pendiente del cuidado del hogar en general. Quienes aseguraron usar medidas preventivas como mascarilla y guantes.

Según estudios indican que el uso de pesticidas, es desde las épocas tempranas del surgimiento y desarrollo del hombre, ya que tuvo la necesidad de combatir las plagas que afectaban sus cultivos y productos, con el uso de sustancias capaces de eliminarlos⁽⁴²⁾. Se ponen en contacto a través de todas las vías de exposición posibles: respiratoria, digestiva y dérmica, pues estos pueden encontrarse en función de sus características, en el aire inhalado, en el agua y en los alimentos, entre otros medios ambientales⁽⁴³⁾, produciendo un efecto agudo y crónico en la salud, cuando el grado de exposición supere los niveles considerados seguros. Puede darse una exposición directa a plaguicidas en el caso de los trabajadores de la industria que fabrican plaguicidas, los operarios y una exposición indirecta en el caso de consumidores, residentes y transeúntes, en particular durante o después de la aplicación de plaguicidas en agricultura, jardinería o terrenos deportivos⁽⁴²⁾.

Además, no usan enfriadores de aire debido a que tienen niños pequeños y ancianos en su hogar que les podría afectar. El aire su forma natural, es tan puro, que le da al cuerpo la limpieza necesaria al organismo. Sin embargo, en los últimos años, los cambios tecnológicos, la urbanización de las zonas rurales, la introducción de nuevos productos, el incremento en las poblaciones y en las vías de tránsito; ha fomentado el empleo de sustancias tóxicas al medio ambiente, conocidas como contaminantes⁽⁴³⁾.

A pesar de los grandes incrementos de contaminantes en el ambiente externo, los seres humanos podemos controlar en casa lo que nuestro cuerpo está recibiendo, mediante el uso de purificadores de aire, dispositivos que eliminan tóxicos y partículas suspendidas en el aire, mediante un sistema de limpieza automática; previniendo enfermedades respiratorias, ataques asmáticos o alérgicos, problemas cardiovasculares y dermatitis atópica, entre otras⁽⁴³⁾.

En la tabla 6 manifiestan consumir alimentos de origen biológico: frutas, verduras dos o tres veces por semana, hay dietas ricas como la dieta mediterránea o enriquecidas con antioxidantes parecen prevenir o al menos disminuir el deterioro funcional orgánico originado por un exceso de estrés oxidativo⁽⁴⁴⁾.

Los alimentos biológicos tienen un nivel de antioxidantes sustancialmente mayor y presentan menores niveles de metales tóxicos y de pesticidas que los cultivados métodos convencionales, usando fertilizantes químicos. Muchos de los compuestos se han relacionado con un riesgo reducido de enfermedades crónicas, que incluyen enfermedades cardiovasculares y enfermedades neurodegenerativas y ciertos tipos de cáncer⁽⁴⁴⁾.

En los últimos años el consumo de frutas y vegetales ha sido asociado con una menor incidencia y mortalidad por diferentes enfermedades, las bondades de estos alimentos se han atribuido a sus altos contenidos de antioxidantes. Recientemente, se ha podido atribuir el efecto de una dieta rica en frutas y hortalizas, el alto poder de acción contra los radicales libres o capacidad antioxidante que éstos exhiben. Los antioxidantes naturales como las vitaminas C y E, compuestos fenólicos (que incluyen los flavonoides), carotenoides y antocianinas poseen la capacidad de atenuar el efecto en el organismo de los radicales libres, resultantes de las reacciones oxidativas que acompañan el organismo y que pueden inducir a enfermedades como las anteriormente mencionadas⁽⁴⁵⁾.

Los suplementos multivitamínicos son preparados con al menos tres vitaminas y minerales en cantidades requeridas por el cuerpo para un óptimo desarrollo de actividades evitando la carencia de nutrientes^(46,47).

En la tabla 7 manifiestan tener un entorno sonoro muy ruidoso, la contaminación sonora es la presencia en el ambiente de niveles de ruido alto como la actividad humana; el transporte, la construcción de edificios y obras públicas, la industria, entre otras, que implica molestia, riesgos, perjudique o afecte la salud puede producir estrés, presión alta, vértigo, insomnio, dificultades del habla y pérdida de audición^(48,49). Impidiendo la concentración y el aprendizaje, y lo que es más grave, creando estados de cansancio y tensión que pueden degenerar en enfermedades de tipo nervioso y cardiovascular^(50,51).

La contaminación ambiental es otro de los grandes problemas que afecta la salud de los limeños. Muchas enfermedades han aumentado de manera importante en las últimas décadas en los países en vías de desarrollo, particularmente las enfermedades crónicas, las cuales estarían asociadas a contaminantes ambientales que pueden estar en el agua y en el aire⁽⁵⁰⁾.

En el Perú, un tercio de viviendas utilizan combustible de biomasa para cocinar o para calefacción. Los contaminantes producidos por la combustión de esta biomasa tienen efectos negativos en la salud. El aire exterior en Perú también está contaminado, a un alto nivel comparado con otros países latinoamericanos, según un reporte reciente de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Se sabe que la materia particulada en el aire exterior está asociada con varias enfermedades crónicas. El Perú es también un país netamente minero, por lo cual está expuesto a la contaminación ambiental producida por la explotación minera; esto implica un importante efecto negativo tanto de la contaminación de aire de exteriores y de interiores⁽⁵⁰⁾.

En América Latina, la ciudad con peores indicadores de calidad de aire es Lima. La OMS, ha elegido a la ciudad de Lima como una de las más contaminadas de Latinoamérica. Lima también ha tenido algunos avances en la calidad de su aire, pero a partir del 2014 estamos perdiendo terreno con respecto a las otras ciudades en la región⁽⁵⁰⁾.

Sobre la exposición a estrés psicológico en el trabajo o en la vida diaria es cada vez más frecuente. El ritmo diario de toda la sociedad se ha acelerado considerablemente, de modo que son muy distintas las presiones y tensiones, siendo las consecuencias del estrés oxidativo para la salud bien conocidas y puede provocar algunos tipos de enfermedades afectando la calidad de vida de las personas⁽⁵¹⁾.

En el ámbito de las profesiones de la salud, el efecto del estrés es grave porque no solo afecta al profesional que lo padece, sino también al enfermo que depende de sus cuidados. En cuanto al gremio, presenta notables diferencias en función del género, ocupación y cargo desempeñado. La prevención es la vía ideal de solución de este problema. Se basa fundamentalmente en una organización del trabajo más racional, el establecimiento de turnos más equilibrados, la conciliación de la vida laboral y familiar, el desarrollo de un ambiente agradable en el puesto de trabajo, la intervención con los propios trabajadores y el desarrollo de políticas socio laborales promotoras de la salud^(52,53).

Respecto a los problemas de salud en la tabla 8 la mayoría no presenta problemas de salud, debido a que por ser profesionales de la salud toman un cierto compromiso sobre ellos mismos y familias el de realizar acciones que favorezca, controlen, situaciones que con el tiempo pueden afectar a la salud de cada uno de ellos. Es posible que las enfermedades neurodegenerativas sean de las más estudiadas en el contexto del estrés oxidativo. Se ha advertido el aumento del deterioro de proteínas específicas por la presencia elevada de las especies reactivas del oxígeno⁽¹⁷⁾.

Por tanto es importante que la población tenga conocimiento de su estado en relación del estrés oxidativo para que realicen actividades que favorezcan su buen estado de salud, disminuyendo el riesgo del estrés oxidativo y sus complicaciones, asimismo saber qué factores pueden causar el mismo, para posteriormente adoptar acciones para el beneficio de su salud^(54,55).

Conclusión

La población en estudio presenta riesgo bajo o medio de sufrir estrés oxidativo según la puntuación obtenida del cuestionario.

Bibliografía

1. Díaz G, Escobar W, Pizarro, E. Estrés oxidativo cuando el equilibrio se pierde. Motricidad y persona 2013 Revista N° 13
2. Corrales M, Muñoz M. Estrés oxidativo, origen, evolución y consecuencia de la toxicidad del oxígeno Nova - Publicación Científica en Ciencias Biomédicas Julio-Diciembre 2012 Vol. 10 No.18:135–250 Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v10n18/v10n18a08.pdf>
3. Calderón J, Muñoz E, Quintanar M. Estrés oxidativo y diabetes mellitus Revista educación Bioquímica México 2013 Vol.32 no.2 Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-19952013000200002
4. Dorado C. Revista de la Facultad de Medicina. Estrés oxidativo y neurodegeneración. Departamento Biología. Departamento de Biología Celular y Tisular de la Facultad de Medicina, UNAM. 2003 [acceso 13 de abril de 2020]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2003/un036f.pdf>
5. Contreras F. Valoración de la respuesta neonatal ante el estrés oxidativo. Análisis comparativos entre recién nacidos a término y pretérminos. Universidad de Granada. Facultad de Medicina. 2005 [acceso 13 de abril de 202]. Disponible en: <https://hera.ugr.es/tesisugr/15519235.pdf>
6. Cortaza L, Torres M. Estrés laboral en enfermeros de un hospital de Veracruz México. 2014. [acceso 25 de febrero de 20218]. Disponible en: <http://www.enfermeria21.com/revistas/aladefe/articulo/103/>
7. Sánchez V. Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. Departamento de Investigación Biomédica. Fundación clínica médica sur. México. 2013. Disponible en: <http://medicasur.org.mx/pdf-revista/RMS133-AR01-PROTEGIDO.pdf>
8. Sánchez V y Méndez N. Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/medsur/ms-2013/ms133e.pdf>
9. Mokhtari K. Caracterización del efecto antioxidante y proliferativo del ácido maslinico en diferentes líneas celulares. Tesis doctoral. Departamento de bioquímica y biología molecular I. Universidad de granada. [Internet]. 2013
10. Zamora J. ANTIOXIDANTES: MICRONUTRIENTES EN LUCHA POR LA SALUD. Revista Chilena Nutrición. [Internet]. 2007
11. Constanza L. Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. 2012 [acceso 11 de marzo de 2020]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v10n18/v10n18a08.pdf>

- 12.** De Tursi L. Estrés oxidativo; estudio comparativo entre un grupo de población normal y un grupo de población obesa mórbida. *Nutrición Hospitalaria*.2013. 28:671-675. [acceso 13 de abril de 2020] Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/3092/309226242017.pdf>
- 13.** Mantello P. ¿Cuál es su nivel de estrés oxidativo? *Antiaging Osato Institute research* [Internet] 2017
- 14.** Hernández R. *Metodología de la Investigación*. 3° ed. McGraw Hill. México. 2003. pp: 113-136, 183-189, 558-560.
- 15.** Méndez J. Parque automotor y contaminación ambiental en el Centro Histórico de Lima. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Tesis. Para optar el Título Profesional de Licenciado en Antropología. [Internet].
- 16.** Zorrilla A. El envejecimiento y el estrés oxidativo. *Revista cubana de investigaciones biomédicas*. [Internet]. 2002.
- 17.** Cruz E. Estrés oxidativo e hipertensión esencial: una realidad clínica. Cuba. [Internet]. 2004
- 18.** Ministerio de Salud. Informe técnico. Estado nutricional en el Perú por etapas de vida, 2012,2013. Perú. [Internet] 2015
- 19.** INEI. Perú: Enfermedades no transmisibles y transmisibles, 2016. Perú. [Internet]. 2017.
- 20.** Coronado M. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista Chilena Nutricional*. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco-México.2015;43(2). [acceso 26 de mayo de 2020] Disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/rchnut/v42n2/art14.pdf>
- 21.** Avello M. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad de Concepción. Chile. [Internet]. 2006.
- 22.** Burke A, FitzGerald G. Estrés oxidativo y lesión vascular inducida por el tabaquismo. [Internet].2003
- 23.** Calle E, Melgarejo I. Oxidantes en el humo del cigarrillo y enfermedad cardiopulmonar. Bolivia. [Internet]. 2005
- 24.** Capyclo. Cooperativa de agua potable ¿Cuál es la diferencia entre agua pura y agua potable? Argentina. [Internet]. 2018
- 25.** SALUDTERAPIA. El agua alcalina desciende el estrés oxidativo de la diabetes tipo 1. España. [Internet]. 2016
- 26.** Miranda O. El agua de los caños de Lima se puede beber. Perú. 2012 [acceso 24 de junio de 2020]. Disponible en: <http://larepublica.pe/archivo/681452-el-agua-de-los-canos-de-lima-se-puede-beber>
- 27.** Mulero M. Efecto de la radiación ultravioleta (RUV) sobre los procesos de estrés oxidativo e inmunodepresión cutánea. Efecto protector de los filtros solares. España. [Internet]. 2004.
- 28.** Sainz M. Los riesgos de teñirse el pelo. España. [Internet]. 2007 [acceso 29 de mayo de 2020]. Disponible en: <http://www.elmundo.es/elmundosalud/2007/02/02/medicina/1170412215.html>
- 29.** Instituto Nacional de Seguridad, Salud y bienestar en el Trabajo. Tratamientos del cabello en peluquerías: exposición a agentes químicos. España. 2013 [acceso 29 de mayo de 2020]. Disponible en: http://stp.inssbt.es/stp/sites/default/files/basequim_013_0.pdf
- 30.** Fernández J, Armario J. Sensibilización por contacto a parafenilendiamina. Experiencia de 10 años. España. [Internet]. 2004 [acceso 29 de mayo de 2020]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/cutanea/mc-2004/mc041c.pdf>
- 31.** Ruiz L. Productos químicos utilizados para la limpieza en seco. [Internet]. 2013
- 32.** Arquer A. Actividad física y estrés oxidativo. España. 2010 [acceso 10 de junio de 2020] Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1886658109000097>
- 33.** Mannise R. El microondas reduce los nutrientes de los alimentos. 2012 [acceso 10 de junio de 2020]. Disponible en: <https://ecosas.com/cocina-y-alimentos/microondas-nutrientes/>

34. Entrenas L. Asma y contaminación. España. 2016 [acceso 24 de junio de 2020]. Disponible en: <http://www.separcontenidos.es/revista3/index.php/revista/article/download/110/12>
35. Gómez G. Micronutrientes y enfermedades crónicas. Universidad de Costa Rica. Departamento Bioquímico. Costa Rica. 2009 [acceso 16 de julio de 2020]. Disponible en: <http://www.scielo.sa.cr/pdf/amc/v51n3/a05v51n3.pdf>
36. García R. Desarrollo o crecimiento urbano en Lima: el caso de los distritos del Sur. Perú. 2004 [acceso 16 de julio de 2020]. Disponible en: <http://urbano.org.pe/descargas/investigaciones/PERU-HOY/PH-2015.pdf>
37. Abilés J. Efectos del consumo de aceites termo-oxidados sobre la peroxidación lipídica en animales de laboratorio. España. 2009 [acceso 24 de junio de 2020]. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S0212-16112009000400012&script=sci_arttext&tlng=pt
38. BBC Mundo. Cuán cierto es que la comida pierde nutrientes en el microondas. España 2016 [acceso 10 de junio de 2020]. Disponible en: <http://www.bbc.com/mundo/noticias-37156491>
39. Melgarejo I. Estrés oxidativo por exposición crónica a la altura y al monóxido de carbono por uso de leña. Bolivia. 2016 [acceso 10 de junio de 2020]. Disponible en: <http://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/10215/MelgarejoEstr%C3%A9s.pdf?sequence=1&isAllowed=1>
40. López F. Exposición a disolventes. España. 2008 [acceso 24 de junio de 2020]. Disponible en: http://www.cancerceroen el trabajo.ccoo.es/comunes/recursos/99924/pub44957_Exp osicion_laboral_a disolventes.pdf
41. Del Puerto Rodríguez A, Suárez S, Palacio D. Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. Revista Cubana de higiene y epidemiología. 2014 3(4) [acceso 24 de junio de 2020] Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-3003201400030010
42. 41. Martin A, García A, Gutiérrez A, Peinado L y De las heras M. Exposición laboral a disolventes. Madrid 2008 25-40 [acceso 24 de junio de 2020]. Disponible en: http://www.exyge.eu/blog/wp-content/uploads/2017/04/prl_disolventes.pdf
43. Moreno F. Ventilación en los lugares de trabajo. Instituto de salud pública. Chile. 2014 [acceso 24 de junio de 2020]. Disponible en: <http://www.ispch.cl/sites/default/files/SituacionCondicionLaboral-04092014A.pdf>
44. Barański M. Mayor antioxidante y menores concentraciones de cadmio y menor incidencia de residuos de plaguicidas en cultivos orgánicos: una revisión sistemática de la literatura y metaanálisis. Francia. 2014 [acceso 24 de junio de 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24968103>
45. Alvares, L. Consumo de alimentos naturales con capacidad antioxidantes en adultos mayores. Argentina. 2013 Disponible en: <http://imgbiblio.vaneduc.edu.ar/fulltext/files/TC112119.pdf>
46. Baca W. Evaluación de impacto sonoro en la Pontificia Universidad Católica del Perú. [acceso 16 de julio de 2020]. Disponible en: http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/123456789/1327/BACAWILLIAM_Y_SEMINARIO_SAUL_IMPACTO_SONORO.pdf?sequence=1
47. Observatorio de salud y medio ambiente de Andalucía. (OSMAN). España. 2014 [acceso 16 de julio de 2020]. Disponible en: https://www.diba.cat/c/document_library/get_file?uuid=72b1d-2fd-c5e5-4751-b071-8822dfdfded&groupId=7294824
48. Delgado L. Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. Investigación y Ciencia. México. 2010 [acceso 26 de mayo de 2020]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/html/674/67415744003/>
49. Guerra E. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. Servicio de Medicina Interna del Hospital de Navarra. [Internet]. 2001
50. Venereo J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Revista Cubana de Medicina Militar. Instituto Superior de Medicina Militar "Dr. Luis Díaz Soto". Ciudad de La Habana, Cuba. [Internet]. 2002
51. Aguado J. El estrés en personal sanitario hospitalario; estado actual. España. [Internet]. 2013

- 52.** García M, Gil M. El estrés en el ámbito de los profesionales de la salud. Universidad de Zaragoza. España. 2016 [acceso 16 de julio de 2020]. Disponible en: <http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/4131.pdf>
- 53.** Cortaza L, Torres M. Estrés laboral en enfermeros de un hospital de Veracruz. México. 2014 [acceso 16 de julio de 2020]. Disponible en: <http://www.enfermeria21.com/revistas/aladefe/articulo/103/>
- 54.** Camacho J. Estrés oxidativo en enfermeras de terapia intensiva. Revista cubana de enfermería. Cuba. 2014 [acceso 16 de julio de 2020]. Disponible en: <http://www.revenfermeria.sld.cu/index.php/enf/article/view/856/145>


© BY-NC-SA 4.0

doi: 10.30827/ars.v62i3.16244

Artículos originales

Desarrollo de una guía de seguimiento farmacoterapéutico de pacientes pediátricos con enfermedad renal crónica

Pharmacotheapeutic follow-up guide for pediatric patients with chronic kidney disease

Kattia Bermúdez-Carvajal¹  0000-0002-3548-3861

María Soledad Quesada-Morúa²  0000-0002-4934-5750

Adriana Brenes-Aguilar³  0000-0001-5810-9066

Gloria Arias-Porras³  0000-0002-0899-3292

¹Universidad de Costa Rica, Facultad de Farmacia, San Pedro de Montes de Oca, Costa Rica.

²Universidad de Costa Rica, Facultad de Farmacia, Departamento de Atención Farmacéutica y Farmacia Clínica, San Pedro de Montes de Oca, Costa Rica.

³Caja Costarricense de Seguro Social, Hospital Nacional de Niños, Servicio de Farmacia, San José, Costa Rica.

Correspondencia

Kattia Bermúdez Carvajal
kber02@gmail.com

Received: 22.10.2020

Accepted: 24.03.2021

Published: 21.06.2021

Financiación

Esta investigación no recibió financiamiento alguno.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de interés alguno.

Resumen

Introducción: A nivel latinoamericano, existen estudios sobre el desarrollo e implementación de programas de atención farmacéutica en pacientes pediátricos con resultados positivos en los pacientes y sus cuidadores. Sin embargo, en el caso de Costa Rica, solamente hay reportados estudios en hospitales que atienden población adulta.

Objetivo: Desarrollar una guía de seguimiento farmacoterapéutico (SFT) para pacientes pediátricos con enfermedad renal crónica (ERC), atendidos en el Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera (HNN), para mejorar la adherencia a la terapia y el uso adecuado de la medicación.

Métodos: Se realizó una búsqueda bibliográfica sobre la enfermedad y sobre diferentes programas de atención farmacéutica para elaborar la guía de atención farmacéutica y SFT. Por último, se elaboraron y validaron materiales educativos dirigidos a los cuidadores y niños atendidos en el servicio de nefrología.

Resultados: Se desarrolló y validó una guía de SFT. Esta incluyó las siguientes secciones: recopilación de datos demográficos, desarrollo de la consulta, fase de estudio y registro. Se adaptó un instrumento de medición de adherencia para ser usado en la población pediátrica. Se desarrollaron y validaron cuatro materiales educativos.

Conclusiones: El protocolo y recursos informativos planteados fueron considerados, por los farmacéuticos del Hospital Nacional de Niños, herramientas de utilidad y aplicabilidad para brindar una atención integral a pacientes del servicio de Nefrología y promover la adherencia terapéutica de los pacientes.

Palabras clave: atención farmacéutica; seguimiento farmacoterapéutico; adherencia terapéutica; enfermedad renal; pediatría; Caja Costarricense de Seguro Social.

Abstract

Introduction: In Latin America, there is a wide body of information on the development and implementation of pharmaceutical care programmes for children, with positive results for the patients and their parents. However, there are no such reports for Costa Rica.

Aim: To develop a pharmaceutical follow-up protocol for pediatric patients with chronic renal disease, who attend the Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera, in order to enhance adherence to therapy.

Results: We developed and validated a pharmaceutical follow-up protocol. This protocol included three sections: demographic data collection, pharmacotherapeutic, clinical and adherence history review, study phase and registry. We adapted an adherence instrument to be used on pediatric patients and developed four different types of educational material.

Conclusions: The pharmacists considered the protocol and educational materials to be useful for the pharmacotherapeutic follow-up service, to promote adherence in pediatric patients.

Keywords: Pharmaceutical Care; Pharmacotherapeutic Follow-up; Treatment Adherence; Chronic Kidney Disease; Pediatric; Caja Costarricense de Seguro Social.

Puntos clave

En América Latina hay muy pocos reportes de programas de atención farmacéutica en pacientes pediátricos con resultados positivos en los pacientes y sus cuidadores. En Costa Rica solamente hay estudios en hospitales para adultos.

Esta guía de educación sanitaria permite, mediante la intervención farmacéutica, promover el empoderamiento de la población pediátrica con ERC, sus familiares y cuidadores; para mejorar la adherencia a sus tratamientos.

El protocolo y recursos informativos planteados fueron considerados, por los farmacéuticos del Hospital Nacional de Niños, herramientas de utilidad y aplicabilidad para brindar una atención integral a pacientes del servicio de Nefrología y promover la adherencia terapéutica de los pacientes

Introducción

La enfermedad renal crónica (ERC) se define como la disminución de la función renal, expresada por una filtración glomerular menor de 60 ml/min/1,73 m² o como la presencia de daño renal de forma persistente durante al menos tres meses⁽¹⁾.

En el caso de la población pediátrica, a nivel global, existe poca información acerca de la incidencia de la enfermedad renal crónica; se sugiere que podría ocurrir en 1% de los niños y adolescentes a nivel mundial. Se considera que la prevalencia de este padecimiento en la infancia no es tan común, sin embargo, los datos son variables según factores regionales, culturales y de recolección de la información⁽²⁾.

Según datos reportados por Asociación Española de Pediatría, las causas de enfermedad renal crónica en niños son distintas a las de los adultos. Las causas más frecuentes son las malformaciones congénitas como uropatías obstructivas, nefropatía por reflujo, displasia-hipoplasia renal, más frecuentes cuando más joven es el paciente. Otras causas son las enfermedades glomerulares primarias o secundarias, más frecuentes en los niños mayores⁽³⁾.

En Costa Rica, la Caja Costarricense de Seguro Social (CCSS) es un modelo de seguridad social solidario, que vela por brindar un abordaje integral a los pacientes, entre ellos personas con enfermedad renal⁽⁴⁾. Desde la década de los 60 existe el Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera (HNN), el cual es parte del tercer nivel de atención y es un hospital nacional especializado en la atención sanitaria de la población pediátrica⁽⁵⁾. Como parte de sus actividades clínicas, el hospital atiende niños con ERC. Estos son pacientes polimedicados, que provienen, en gran proporción, de familias con un nivel educativo y socioeconómico bajo, que complica la comprensión y la importancia del cumplimiento de la farmacoterapia.

Aunque se ha brindado apoyo a estos pacientes por parte del servicio de farmacia del HNN, no hay una guía de actuación sistematizada que permita dar trazabilidad a las actividades de atención farmacéutica, entre ellas las estrategias para fomentar la adherencia a los tratamientos prescritos en el servicio de Nefrología.

En este sentido, esta investigación surge del interés por profundizar en la atención integral que se le puede brindar a pacientes con nefropatías de alta incidencia en el Hospital Nacional de Niños, para fomentar la adherencia al tratamiento, y proponer estrategias que permitan educar a los pacientes y cuidadores acerca de las patologías y la importancia de la farmacoterapia que requieren para promover una mejor calidad de vida.

Métodos

Elaboración de la guía

Para elaborar la guía, se realizó una búsqueda bibliográfica sobre programas de atención farmacéutica, adherencia e información educativa para la población pediátrica con ERC en las bases de datos bibliográficas como Up-to-date, Access Pharmacy y otras bases de datos disponibles en el Sistema de Bibliotecas, Documentación y Información (SIBDI) de la Universidad de Costa Rica.

La guía fue elaborada por la farmacéutica interna del servicio de farmacia, en conjunto con una farmacéutica especialista en Atención Farmacéutica de la Universidad de Costa Rica y dos farmacéuticas del servicio de Farmacia del HNN.

Para asegurar su utilidad y aplicabilidad, en todo momento se consideraron las poblaciones meta: el personal farmacéutico que la utilizaría y los pacientes y cuidadores con ERC a los que se les aplicaría.

Diseño de materiales educativos

Se diseñaron cuatro materiales educativos sobre ERC bajo la tutela de una profesional en el área educativa, dirigidos a los padres o cuidadores y a los niños y niñas del servicio. Este material fue validado y evaluado por cinco farmacéuticos del servicio de farmacia del hospital. Evaluaron la comprensión, funcionalidad, aceptación, inducción a la acción de los mensajes a difundir, la claridad del mensaje y la pertinencia de las ilustraciones y gráficas, el uso de los colores, la conveniencia del tamaño de letra y otros aspectos de forma.

Debido a la pandemia por el SARS Cov2, la asistencia de los pacientes a la consulta regular fue postergada y, por lo tanto, la validación de los materiales educativos por parte de los niños y sus cuidadores debió ser pospuesta hasta que se normalice la situación.

Resultados

La guía para realizar seguimiento farmacoterapéutico para la población pediátrica con enfermedad crónica atendida plantea el servicio de atención farmacéutica en cuatro fases: la referencia de los pacientes por el servicio de nefrología del hospital o servicio de farmacia; el desarrollo de la consulta, una fase de estudio y evaluación de la información obtenida durante la consulta farmacéutica y, por último, el registro de las intervenciones propuestas por el farmacéutico (Tabla 1).

Para el desarrollo de la consulta, se planteó un formulario de entrevista para recopilar datos sobre el historial de salud del paciente y su historia farmacoterapéutica y otros datos demográficos.

La determinación de la adherencia contempló dos mediciones: la prueba Morinsky Green y el documento “Valoración de Factores Predictivos de la Adherencia Terapéutica” de los Programas de Atención Farmacéutica de la CCSS⁽⁶⁾ (Tabla 2). Este documento se adaptó para ser usado en población pediátrica y fue validado por cuatro farmacéuticos del servicio de Farmacia del HNN. Se evaluó la claridad de su redacción, si era apropiada según la población meta; y la posibilidad de sesgo o inducción a la respuesta. Además, entre las valoraciones positivas se reportaron: el instrumento identifica una rutina diaria; es claro, preciso y concreto. Entre las valoraciones negativas se encontró que el instrumento es largo; sin embargo, se rescató que se aplica solamente una vez al paciente.

Tabla 1. Proceso de seguimiento farmacoterapéutico para pacientes pediátricos con enfermedad renal crónica.

Fase	Contenidos: actividades a realizar	Responsable
Referencia del paciente	El paciente viene referido por el servicio de nefrología del hospital El paciente viene referido por el servicio de farmacia del hospital	Servicio de Nefrología Servicio de Farmacia
Desarrollo de consulta	Recolección de historia clínica y farmacoterapéutica Determinación de adherencia según la prueba de Morinsky Green. Identificación de factores predictivos de adherencia terapéutica según instrumento “Valoración de Factores Predictivos de la Adherencia Terapéutica”. Evaluación de factores predictivos de la adherencia terapéutica de los pacientes. Planteamiento de plan de intervenciones en conjunto con el paciente y su cuidador. Desarrollo de educación sanitaria mediante recursos informativos acerca de la enfermedad e importancia de la farmacoterapia (uso de rotafolio, historieta y fichas farmacoterapéuticas). Evaluación de la comprensión del paciente con respecto a la información transmitida (uso de tarjetas de comprensión de información).	Servicio de Atención Farmacéutica
Fase de estudio	Análisis de la historia clínica y los datos obtenidos en el desarrollo de la consulta. Revisión de bibliografía Planteamiento y desarrollo de la intervención farmacéutica y plan de actuación, en concordancia con el médico tratante. Registro de la intervención en la historia clínica del paciente. Detección y notificación de RAM	Servicio de Atención Farmacéutica
Registro	Registro en el expediente y en las bases de datos, la intervención farmacéutica y el plan de acción	Servicio de Atención Farmacéutica

Tabla 2. Secciones de instrumento de “Valoración de Factores Predictivos de la Adherencia Terapéutica adaptado para pacientes del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera”.

Sección	Descripción breve
1	Se enfoca en registrar los datos personales del paciente, como su edad, domicilio, familiares con los que habita, nombre y edad de su cuidador(a) principal, así como motivo de referencia y diagnóstico, entre otros.
2	Registra la rutina diaria del paciente, tomando en cuenta su horario para dormir, entrada y salida de su centro educativo y su horario de alimentación. Además, existe un apartado para una descripción resumida de los tiempos de comida y los alimentos que consume normalmente el paciente.
3	Analiza factores relacionados con el paciente acerca de su capacidad de deglución, alimentación acorde a su condición, actividad física e hidratación diaria.
4	Se evalúan factores relacionados al cuidador(a) principal en relación con su escolaridad, capacidades visuales, auditivas y cognitivas.
5	Se plantean preguntas sobre factores socioeconómicos importantes de conocer por el profesional sanitario. Entre ellas, se busca conocer si el paciente cuenta con servicios básicos, como vivienda, agua potable, electricidad, entre otros. Además, se evalúa si el paciente cuenta con una red de apoyo para la administración correcta de sus medicamentos, si el cuidador(a) cuenta con apoyo y facilidad para retirar los medicamentos o asistir a las citas médicas.

Sección	Descripción breve
6	Se relaciona con factores concernientes al equipo o sistema sanitario para conocer los centros a los que asiste el paciente y cuidador(a) a retirar los medicamentos. Asimismo, se evalúa si el cuidador principal conoce horarios de entrega y retiro de recetas.
7	Se estudia la comprensión del paciente y cuidador(a) acerca de la enfermedad que padece, complicaciones, síntomas, exámenes relevantes para su control, entre otros aspectos.
8	Trata sobre factores relacionados con el tratamiento farmacológico del paciente; se plantean preguntas acerca de los nombres y funciones de la terapia que está utilizando, las dosis, frecuencia, horario de medicamentos, almacenamiento de medicamentos, efectos adversos, si se ha interrumpido el tratamiento por algún motivo, entre otros.

Se diseñaron 4 materiales educativos, dirigidos a los padres o cuidadores y a los niños y niñas con ERC, para promover el uso adecuado de los medicamentos y adoptar estilos de vida saludables.

Se elaboró un rotafolio informativo para ser usado por los farmacéuticos durante la consulta (Figura 1). Cuenta con una sección introductoria, en la cual se explica el concepto de atención farmacéutica y las funciones de los farmacéuticos para el mejoramiento de la salud. En la segunda sección se tienen en cuenta las definiciones y características de la enfermedad renal crónica, signos y síntomas y la importancia de cumplir correctamente el régimen farmacoterapéutico. La última sección incorpora consejos para mejorar la salud del paciente, tomando en cuenta aspectos como: práctica de actividad física, buenos hábitos alimenticios y correcta hidratación, control comorbilidades, importancia de evitar la automedicación; y control y reporte de efectos adversos de sus medicamentos.



Figura 1. Imágenes del rotafolio elaborado.

Se elaboró una historieta sobre la enfermedad renal crónica para pacientes menores de 14 años. La historieta se desarrolló con ilustraciones sencillas y vocabulario para la comprensión de niños y niñas pequeños. Explica las generalidades sobre ERC, importancia de la farmacoterapia, promoción de buenos hábitos alimenticios y ejercicio físico y promoción de una hidratación adecuada (Figura 2).



Figura 2. Imágenes de la historieta elaborada.

Las fichas de farmacoterapia contienen información importante de los medicamentos que estos pacientes toman regularmente. Estos medicamentos se encuentran en la Lista Oficial de Medicamentos (LOM) de la Caja Costarricense de Seguro Social, aprobados para ERC en población pediátrica. Entre la información descrita en estos materiales, se encuentran: vía de administración, presentación disponible en el hospital, uso del medicamento, indicaciones para su preparación en casa para suplementos electrolíticos, recomendaciones para una administración correcta, almacenamiento adecuado, posibles efectos adversos (Figura 3).

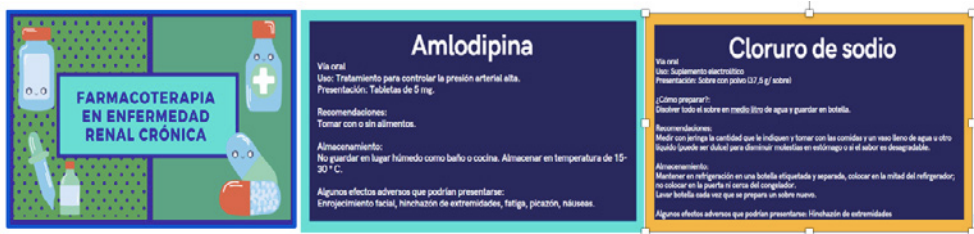


Figura 3. Imágenes de algunas fichas de farmacoterapia

Se diseñaron tarjetas para evaluar comprensión de los temas por parte de los pacientes pediátricos y sus cuidadores acerca del uso adecuado de los medicamentos (Figura 4).



Figura 4. Tarjetas para evaluar la comprensión de la farmacoterapia.

Discusión

La enfermedad renal crónica es una de las principales complicaciones de padecimientos crónicos, como la diabetes mellitus o hipertensión arterial. En la población pediátrica, a nivel global, la incidencia y prevalencia de la ERC es variable^(2,4).

En Costa Rica, según datos del Servicio de Nefrología, el HNN trata entre 40 y 50 pacientes con enfermedad renal crónica al año. Alrededor de 25 pacientes se encuentran con terapia después de trasplante renal⁽⁷⁾.

En la atención de estos pacientes, el Servicio de Nefrología ha detectado que, al alta médica, estos pacientes reciben 5 medicamentos en promedio; y que muchos provienen de familias con un nivel educativo y socioeconómico bajo, lo que se ha relacionado con problemas en la comprensión de la enfermedad y problemas en el cumplimiento de la farmacoterapia⁽⁷⁾, siendo necesaria la evaluación de la adherencia y la educación sanitaria para que conozcan y usen adecuadamente sus terapias farmacológicas^(2,8).

A partir de ello, la participación del farmacéutico en el abordaje de estos pacientes debe centrarse en la prestación de servicios que permitan la atención personalizada dirigida al paciente y a su red de apoyo. Las guías de seguimiento farmacoterapéutico son recursos importantes para lograr que esta intervención farmacéutica sea exitosa^(9,10). La intervención farmacéutica ha demostrado la resolución de problemas negativos asociados a la medicación, disminuyen los errores a la alta médica, y hay mayor control de las enfermedades^(2,10-13).

En la actualidad, una mayor cantidad de niños y adolescentes deben enfrentar el desafío de convivir con una enfermedad. Lamentablemente, diversos estudios reportan que el 50% de los pacientes con enfermedades crónicas no se adhieren adecuadamente al tratamiento⁽¹¹⁾.

Según diversos autores, la adherencia se trata de un proceso complejo que afecta a todos los agentes del sistema sanitario y cuyo resultado final depende de la interrelación de diversos factores. Existen factores sociales, demográficos y económicos que pueden llegar a afectar la adherencia terapéutica^(12,13), por lo que se contemplaron en el instrumento utilizado en este trabajo.

Es fundamental poder trabajar sobre la adherencia familiar y las barreras que ésta pueda imponer, ya que, en algunas ocasiones, los niños conviven en entornos que plantean grandes dificultades para adquirir conocimientos y lograr cambios conductuales eficaces y perdurables en el tiempo. Por tanto, la familia tiene un rol fundamental para lograr el éxito terapéutico⁽¹⁴⁾. Por esta razón, en este trabajo se planteó la medición de la adherencia en la consulta farmacéutica, con el fin de contar con elementos que permitan plantear las estrategias educativas según la realidad de cada niño.

En la presente investigación, el instrumento de valoración de adherencia terapéutica debió ser adaptado, ya que hasta la fecha solo se había utilizado en población adulta atendida en los programas de Atención Farmacéutica de la Caja Costarricense de Seguro Social. Esa adaptación para la población pediátrica fue necesaria para conocer los aspectos relevantes del entorno social, familiar de cada niño, las características propias de esta población en cuanto a su capacidad de autogestión, entre otros factores. Queda pendiente la validación de este instrumento con los niños y sus cuidadores, ya que por la pandemia esto no pudo llevarse a cabo.

Es imprescindible priorizar estrategias interdisciplinarias para lograr una atención integral del niño y su familia. Estas estrategias deben adecuarse según las diferentes etapas del desarrollo, diseñándolas e implementándolas de manera que el paciente se familiarice con ellas y le sea más sencillo su aplicación⁽¹¹⁾.

Al entrar al período de 6 a 12 años, los niños formulan preguntas acerca del funcionamiento del cuerpo humano y su enfermedad siempre y cuando se los estimule a hacerlo. Necesitan conocer aspectos concretos de la enfermedad y del tratamiento médico que deben seguir, y la información deberá estar orientada a conseguir su colaboración. En niños mayores y adolescentes hay una etapa caracterizada por cambios corporales visibles y por ser un momento de gran vulnerabilidad psicológica. Los adolescentes son capaces de comprender y asimilar los conocimientos con relación a su enfermedad y

las consecuencias de una deficiente adherencia; sin embargo, les cuesta entender la cronicidad del cuadro y mantener un adecuado cumplimiento de las pautas de tratamiento⁽¹¹⁾.

Teniendo en cuenta estas diferencias, en este trabajo se realizó una distinción en la elaboración de los recursos informativos de modo que cada grupo etario tuviera la información adecuada según edad.

El rotafolio informativo se enfocó en pacientes mayores a 14 años debido a que los conceptos y lenguaje utilizados son más complejos. El rotafolio pretende dar una ayuda visual al farmacéutico para cubrir todos los temas relevantes durante la consulta. Se elaboró con figuras y colores llamativos para atraer la atención de la población meta, y para hacer más entretenida la exposición de los temas, factores determinantes en la aceptación de este tipo de materiales educativos^(12,15).

Por el contrario, la historieta, se diseñó con un lenguaje simple y personajes en los que se pueden identificar los pacientes más pequeños, dirigida a pacientes menores a 14 años. Lo anterior es de suma importancia, ya que al elaborar materiales es fundamental comprender las particularidades entre los pacientes⁽¹⁶⁾. El uso de imágenes y personajes permite la transmisión de un mensaje final de forma gráfica. Es una estrategia altamente didáctica que ayuda a comprender temas específicos y que logra representar en sus personajes a la población meta⁽¹⁷⁻¹⁹⁾, en nuestro caso niños con ERC.

Según se ha reportado por parte de los profesionales sanitarios, la utilización de este tipo de estrategias les ayuda a comunicarse de manera eficaz y más empática con diferentes poblaciones, lo que, sin duda, repercute en una mayor confianza en la relación con el paciente, en la adherencia terapéutica y en mejores resultados clínicos en el curso de las enfermedades⁽¹⁹⁾.

Las fichas de medicamentos y tarjetas se elaboraron para evaluar la comprensión sobre la farmacoterapia y para prevenir problemas potenciales relacionados con los medicamentos. Este tipo de recursos le permiten al profesional farmacéutico seleccionar el material de apoyo para el caso en concreto y brindar al paciente información escrita clara, que incluye consejos para una correcta utilización y consideraciones principales de cada medicamento pautado⁽²⁰⁾; propician la participación de los pacientes y cuidadores en la autogestión de su tratamiento. Dos estudios realizados en pacientes con enfermedad renal crónica determinaron que involucrar al paciente en la toma de decisiones compartida, educar sobre la enfermedad, y el acompañamiento y disponibilidad del farmacéutico para resolver dudas y brindar información necesaria, contribuye al empoderamiento de los pacientes para usar los medicamentos con mayor seguridad y fomentar la adherencia, demostrando que cuando el paciente y su cuidador están bien informados de la medicación que se le ha prescrito y de su uso, se consigue más seguridad, efectividad y adherencia al tratamiento^(21,22).

Entre las mayor limitación que se tuvo en este trabajo fue la suspensión de las citas médicas, por motivo de la emergencia sanitaria debido a la pandemia por SARS-CoV-2. Por esta razón, no se logró la poner a prueba la guía de Seguimiento Farmacoterapéutico en el Servicio de Nefrología del Hospital Nacional de Niños Carlos Sáenz Herrera (HNN), ya que las citas fueron reagendadas. Por esta misma razón, la validación de los materiales informativos no pudo ser realizada por parte de los pacientes y cuidadores, lo cual es de suma importancia ya que se considera que la utilidad de estos materiales va a depender de la valoración de la población a la que se dirige.

Conclusión

Para que un paciente mejore su adherencia debe tener un papel activo en el proceso de gestión de su enfermedad, aumentar su autonomía e incrementar su capacidad de autocuidado. Es necesario que conozca la enfermedad y la entienda, así como el tratamiento prescrito y la importancia de cumplirlo.

La educación sanitaria, mediante la intervención farmacéutica, es clave para lograr el empoderamiento de la población pediátrica con ERC, sus familiares y cuidadores.

Agradecimientos

A la Dra. Iliana Agüero, Dra. Stephanie Badilla, Dr. Earvin Montero, Farmacéuticos del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera por su colaboración en la revisión y validación de los documentos.

A Natalia Ballester, docente de Educación Preescolar por su ayuda y colaboración en la elaboración de la historieta informativa.

Bibliografía

1. Arrabal P, Durán M, García M, Ribed A, Hidalgo P, Sanjurjo M. Intervenciones farmacéuticas en las prescripciones de pacientes ingresados con insuficiencia renal crónica. *Nefrología*. 2014; 34(6):710-5. doi: 10.3265/Nefrologia.pre2014.Jul.12541
2. Caja Costarricense de Seguro Social. Gerencia de División Administrativa. Dirección Desarrollo de Servicios de Salud. Protocolo para la Atención de la Persona con Enfermedad Renal Crónica en la Red de Servicios de Salud de la Caja Costarricense de Seguro Social / Caja Costarricense de Seguro Social. 2017.
3. Zamora I, Sanahuja M. Enfermedad renal crónica. Protocolos Diagnóstico-Terapéuticos de la AEP: Nefrología Pediátrica. 2008. Disponible en: https://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/21_2.pdf (accesado 29 de febrero, 2020).
4. Caja Costarricense de Seguro Social. Protocolo para la Atención de la Persona con Enfermedad Renal Crónica en la Red de Servicios de Salud de la Caja Costarricense de Seguro Social / Caja Costarricense de Seguro Social. – San José, CR.: EDNASSS-CCSS, 2017.
5. Hospital Nacional de Niños. 2020. Disponible en: <https://www.ccss.sa.cr/hospitales?v=21> (accesado 29 de febrero, 2020).
6. Caja Costarricense de Seguro Social. Programas de Atención Farmacéutica. Valoración de Factores Predictivos de la Adherencia Terapéutica.
7. Fernández S. (Jefa de Servicio de Nefrología del Hospital Nacional de Niños) Conversación con: Kattia Bermúdez Carvajal (autora) 2 de marzo 2020.
8. Solano M, Casas C, Guarín A. Experiencia de validación de material educativo para pacientes anticoagulados en un servicio de consulta externa. *Repert Med Cir*. 2019; 28 (2): 97-104. doi: 10.31260/Repert Med Cir.v28.n1.2019.917
9. Grupo de investigación en Atención Farmacéutica de la Universidad de Granada: conSIGUE. Programa para la implantación y futura sostenibilidad del servicio de seguimiento farmacoterapéutico en la farmacia comunitaria española. Madrid: Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos (CGCOF); 2016. Informe 2014-2016. ISBN: 978-84-87276-99-6
10. Torralba Fernandez L, Amador Fernández N. Elaboración de una guía de Seguimiento Farmacoterapéutico en el paciente con epilepsia. *ARS Pharm*. 2019; 60(1): 35-40. doi: 10.30837/ars.v60i1.8219
11. Bordato A, Nielsen V, Norton E. Adherencia al tratamiento en niños y adolescentes. *Medicina Infantil*. 2017; 24 (2). Disponible en: http://www.medicinainfantil.org.ar/images/stories/volumen/2017/xxiv_2_155.pdf (accesado 13 de junio, 2020).
12. Sociedad Española de Farmacia Familiar y Comunitaria. Plan de adherencia al tratamiento. Uso responsable del medicamento. Disponible en: https://www.sefac.org/sites/default/files/sefac2010/private/documentos_sefac/documentos/farmaindustria-plan-de-adherencia.pdf (accesado 13 de junio, 2020).
13. Ibarra O, Morillo R. Lo que debes saber sobre la adherencia al tratamiento. Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria (SEFH). 2017. ISBN 978-84-697-7198-3
14. Furlong M, Glejzer M., Wechsler C., Zaponne M., Fortunato C. Motivación y adherencia al tratamiento de niños de 6 a 13 años con sobrepeso y obesidad del HIGA Eva Perón. *Inmanencia*. 2015; 4(2):113-

117. Disponible en: <http://ppct.caicyt.gov.ar/index.php/inmanencia/article/view/8489> (accesado 15 de junio, 2020).

15. Organización Panamericana de la Salud. Guía para el diseño, utilización y evaluación de materiales educativos de salud. 1984. Disponible en: <https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/3285/Guia%20para%20el%20diseño%20%20utilización%20y%20evaluación%20de%20materiales%20educativos%20de%20salud.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (accesado 13 de junio, 2020).

16. Ziemendorff S., Krause A. Guía de Validación de Materiales Educativos. Programa de Agua y Saneamiento. 2003. doi: 10.13140/RG.2.1.3560.1129

17. Barraza E. La historieta y su uso como material didáctico para la enseñanza de la historia en el aula. *Perspectiva Educacional, Formación de Profesores*. 2006; (47):73-97. ISSN: 0716-0488

18. Martínez M. El cómic como recurso para el conocimiento de sí mismo y autonomía personal en educación infantil. 2015. Disponible en: https://www.ucam.edu/sites/default/files/estudios/grados/gradoinfantil/infantil_presencial_2.pdf (accesado 13 de junio, 2020).

19. Mayor, MB. El cómic como recurso didáctico en los estudios de Medicina. *Manual con eje. Cuadernos de la Fundación Dr. Antonio Esteve N° 37*. 2016. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/313030758_El_comic_como_recurso_didactico_en_los_estudios_de_Medicina_Manual_con_ejercicios/link/588dd531a6fdcc8e63cabd3a/download (accesado 13 de junio, 2020).

20. Pla R, García D, Martín MI, Porta A. Información de Medicamentos. En Bonal J, Dominguez-Gil A, Cinta M, Napal V, Valverde E. *Farmacia Hospitalaria*. 2002. Disponible en URL [http://sefh.interguias.com/libros Vidal M. Información de medicamentos y mejora del cumplimiento del tratamiento.Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria](http://sefh.interguias.com/libros/Vidal_M._Información_de_medicamentos_y_mejora_del_cumplimiento_del_tratamiento.Sociedad_Española_de_Farmacia_Hospitalaria). Disponible en: <https://www.sefh.es/bibliotecavirtual/erroresmedicacion/023.pdf> (accesado 13 de junio, 2020).

21. Villegas F, Pereira A. Desarrollo y Validación de un Módulo educativo para pacientes con Enfermedad Renal Crónica en estadio V de un servicio hospitalario de Diálisis Peritoneal Continua Ambulatoria en Costa Rica. *Rev. OFIL-ILAPHAR*. 2018, 28; 3:261-264.

22. Orozco S, Silva M. Experiencia Farmacoterapéutica en pacientes con enfermedad renal crónica atendidos en el Servicio de Nefrología de un hospital en Costa Rica. *Estudio Piloto. Pharm Care Esp*. 2020; 22(4): 246-265

doi: 10.30827/ars.v62i3.16866

Artículos originales

Application Enzymatic Method for Analysis Vaginal Tabletts “Fluomizin”

Aplicación método enzimático para análisis comprimidos vaginales “fluomizin”

Blazheyevskiy Mykola¹

Koval'ska Olena²

¹National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine, Phamaceutical Faculty, Department of Physical and Colloid Chemistry.

²National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine Phamaceutical Faculty, Department of Inorganic Chemistry

Correspondence

Koval'ska Olena
lena05021985@ukr.net

Received: 22.11.2020

Accepted: 05.03.2021

Published: 21.06.2021

Abstract

Introducción: Desarrollo y validación de un nuevo método cinético-fotométrico enzimático para la determinación cuantitativa de cloruro de dequalinio en tabletas vaginales “Fluomizin”, basado en la inhibición de la reacción de hidrólisis enzimática de acetilcolina.

Método: El contenido de cloruro de dequalinio en las tabletas “Fluomizin” Nº 6 se determinó por el grado de inhibición de la reacción enzimática, que se evaluó por la cantidad residual de acetilcolina en la reacción bioquímica. Como indicador, se usó la reacción de oxidación de *p*-fenetidina con ácido peracético, que se forma durante la reacción auxiliar de perhidrólisis con exceso de peróxido de hidrógeno durante un cierto período de tiempo en la mezcla de reacción.

Resultados: Se determinaron las condiciones óptimas para la determinación: pH seleccionado 8,35, concentración de acetilcolina (0,05 mg / ml), colinesterasa (0,4 mg / ml), peróxido de hidrógeno (10%) y *p*-fenetidina (1%) tiempo de reacción (20 min).

Conclusiones: Un método enzimático cinético-fotométrico para determinar el contenido de cloruro de dequalinio en píldoras vaginales “Fluomizin” Nº 6. La validación del método desarrollado para parámetros tales como linealidad, precisión, precisión y límite de cuantificación. Se determinaron los parámetros cinéticos K_m (constante de Michaelis-Menten) y V_{max} (velocidad máxima).

Palabras clave: cloruro de dequalinio; fluomizina; método cinético-fotométrico enzimático.

Abstract

Introduction: Development of a new enzymatic kinetic-photometric method for analysis of Dequalinium chloride, based on the use of enzymatic hydrolysis of acetylcholine, for determine the amount of Dequalinium chloride in the vaginal tablets “Fluomizin” No 6.

Method: The amount of Dequalinium chloride (DCh) was determined by the degree of inhibition of the enzymatic reaction, which was evaluated by the residual unreacted substrate - acetylcholine. Determination of the residual amount of acetylcholine in the reaction mixture was performed by a kinetic-photometric method using an indicator oxidation reaction of *p*-phenetidine with peracetic acid, which is formed during the auxiliary reaction of perhydrolysis with addition of excess hydrogen peroxide in the reaction mixture over a period of time.

Results: Optimal conditions were determined: pH 8.35 was selected, influence of nature of buffer solution, concentration of acetylcholine (0.05 mg / ml), cholinesterase (0.4 mg / ml), hydrogen peroxide (10,0%) and *p*-phenethedine (1 %), the incubation time (10 min).

Conclusions: The procedure for determination of Dequalinium chloride content in the vaginal tablets “Fluomizin” No 6 was developed. The kinetic parameters K_m (Michaelis–Menten constant) and V_{max} (maximal velocity) were determined.

Keywords: Dequalinium chloride; Fluomizin; enzymatic-photometric method.

Introduction

Dequalinium chloride (DCh) is a chemically 1-[10-(4-amino-2-methylquinolin-1-ium-1-yl)decyl]-2-methylquinolin-1-ium-4-amine;dichloride. The molecular formula is $C_{30}H_{26}Cl_2N_4$ and molecular weight is 527.6 g / mol. Dequalinium chloride (DCh) is a quaternary ammonium cation that contains two quaternary quinolinium units linked by an N-decylene chain. It is an antiseptic and disinfectant agent with a broad bactericidal and fungicidal activity. It is most commonly available as a dichloride salt but is available as other various salts as well. It is used in wound dressings and mouth infections and may also have antifungal action, but may associate with skin ulceration. Dequalinium chloride is used as an active ingredient in tablets as Fluomizin for vaginal bacterial infections and in topical bacteriostatic formulation as Dequadin⁽¹⁻⁶⁾.

It is a white crystalline power, soluble in water, free soluble in methanol and acetonitrile. There are several methods for the determination Dequalinium chloride. Literature review reveals that there are few methods described for the estimation of DCh in biological fluid and even impurity of DCh and its tablet formulation are reported with respect to HPLC method which includes normal-phase HPLC and Reverse phase-HPLC, gas-liquid chromatograph. The literature search for spectrophotometric methods of dequalinium reports the need of chromophoric reagent and indication agent for its determination⁽⁷⁻¹²⁾. Thus, the development of simple, less time consuming and photometric method for the assay of Dequalinium chloride in tablets of "Fluomisin" is a very actual problem.

So, the attempt was made to develop a simple, accurate, precise specific enzyme photometric method for the quantitative estimation of Dequalinium chloride in vaginal tablets "Fluomizin"⁽¹³⁾.

The content of DCh in the dosage form in vaginal tablets "Fluomizine" 10 mg (X, mg) was calculated by the formula:

$$X = \frac{50.00 \times w \times U_w \times \bar{m}}{U_{RS} \times 100\% \times m}$$

50.00 is the weight of the sample DCh reference, mg to one table, mg;

w – the content of the basic substance in reference sample of DCh, %; degree of ChE inhibition in working experience, %; U_{RS} - is degree of ChE inhibition in the reference sample experiment, %; \bar{m} - average weight of the tablet, g; m - weight of a sample of powdered tablets, g.

U_{RS} - the degree of inhibition of the enzymatic hydrolysis of Acetylcholine U, %, in the presence of DCh was calculated using the formula: $U = (tg \alpha_c - tg \alpha_{min}) / (tg \alpha_{max} - tg \alpha_{min}) \times 100\%$, where,

- $tg \alpha_c$ – slope of the kinetic curve A vs time for a procedure [(ChE + Inh) + Ach] + H_2O_2 + p-Ph, (min^{-1});
- $tg \alpha_{min}$ – slope of the kinetic curve A vs time for a procedure [(ChE + Ach) + H_2O_2 + p-Ph], (min^{-1});
- $tg \alpha_{max}$ – slope of the kinetic curve A vs time for a procedure [(Ach + H_2O_2) + p-Ph], (min^{-1}).

The calibration curve was linear in the concentration range of 0.2 μg / mL – 0.8 μg / mL of DCh with a correlation coefficient of 0.999. The limit of determination was calculated as 20% degree of ChE inhibition and was 0.35 μg / mL.

The kinetic methods of analysis are increasingly used in various fields of analytical practice, especially in the analysis of clinical trials by enzymatic reactions. These methods are based on the principle - if the detected particles can react with any other substance - the initial velocity is approximately proportional to the initial concentration of the determined particles. Therefore, measuring the initial reaction rate allows to determine the initial concentrations of the reactants. There is no need to wait until the reactants reach equilibrium, so this method of analysis can be performed very quickly. This is especially important for slow reactions.

There are two ways to determine the initial enzyme concentration $[E_0]$. One is the “saturation” of the enzyme with the substrate, the initial concentration of the substrate $[S]$ is very high compared to K_m (Michaelis constant, see equation $d[S] / dt = k_2 [S] [E_0] / [S] + K_m$). In this case, the equation takes a simplified form: $d[S]/dt = k_2 [E_0]$.

Therefore, the reaction rate has been remains constant for a significant period of time, until $[S]$ decreases to the level of K_m . In practice, it is necessary to prepare two reaction mixtures for the determination: the first contains an unknown concentration of enzyme, the second - a known concentration of enzyme. Comparing the reaction rates of the two systems, have calculate the unknown concentration of the enzyme (comparison method). However, there is no need for $[S]$ to be greater than K_m .

Therefore, according to another method, the initial reaction rate is measured when the substrate concentration does not have time to change significantly. Therefore, it is only necessary to determine that both reaction mixtures have the same substrate concentration (regardless of its value), because the initial reaction rate will be directly proportional to the enzyme concentration. When determining the reagent concentration, it is most convenient to measure the initial velocity to interpret the results of slow reactions. This reduces the effects of temperature changes, side effects and other uncontrolled factors. When spectrophotometric control of the reaction course is used by changing the light absorption of the product, it is possible to determine the initial reaction rate by the initial slope of the graphical dependence of absorption on time. For convenience, facilitation of automation and reliability of results, many kinetic techniques use advanced devices that allow you to directly record the initial reaction rate, and if they are properly calibrated, consequently, the concentration of the substance being determined.

An example of the application of kinetic methods is the determination of the enzyme cholinesterase by measuring the rate of selective hydrolytic cleavage of acetylcholine at the presence of the enzyme cholinesterase. New kinetic photometric method for DCh determination based on an inhibition of the enzymatic (cholinesterase) reaction was proposed. The reaction rate was detected at unhydrolysed acetylcholine residue, which is determined by the amount of peracetic acid, wich produced during the impact of H_2O_2 on it. Indicator reaction is a reaction of peracetic acid with 4-ethoxyaniline interaction that leads to the formation of azoxyphenetole with $\lambda_{max} = 350 \text{ nm}$ ($\lg \epsilon = 4.18$). The measurement velocity of changing of light absorption vs. time ($\Delta A / \Delta t, \text{ min}^{-1}$) give a chance to quantitatively determination of DCh.

The initial reaction rate is determined by measuring the change in light absorption over a period of time ($\Delta A / \Delta t, \text{ min}^{-1}$). Since the limiting stage of the whole process is the formation of peracetic acid in the perhydrolysis reaction, the reaction mixture (acetylcholine + hydrogen peroxide) is pre-incubated for 10 min before adding *p*-phenetidine (*p*-Ph). This time was established experimentally in separate experiments. Under the selected conditions, the observed change in light absorption of the reaction product as a function of time is linear over the investigated period of time (for the next 15 min) and does not reveal the curvature characteristic of the pseudo-first-order process.

Méthodes

Measurements were performed at 37 °C, the temperature of the reaction mixture was provided by water thermostating, the pH of the solutions was monitored by a glass electrode ESL-43-07 on a laboratory ionometer “I-130” NPO “Analitpribor”. The utensils were used from the set of the AL-4M military radio-metric and chemical laboratory.

Pharmaceutical preparation vaginal tablets No 6 “Fluomizin”. It contains: Dequalinium chloride 10 mg. Rottendorf Pharma GmbH, Medinova AG.

Acetylcholine Chloride (Pharm Grade) - 0.02 g per amp/5 mL, produced by “VECTOR” – State Science Centre of virology and biotechnology in Russian Federation” (Russia).

Pharmaceutical preparation “Fluomizin” No 6.

Sodium Phosphate dibasic, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (puriss.), CAS -7558-79-4, produced by «ReaChem», Kharkiv, Ukraine.

Dry protein drug of cholinesterase from horse serum - 80 mg / fL (VI class), 27 AU/mg, produced by SMU “Biomed”, Russia.

Remark: The catalytic activity of 1 unit (U) has such amount of the given enzyme preparation which converts 1 μmole of the given substrate in 1 min at the given reaction conditions.

“Stabilized Hydrogen Peroxide 30-40%”, (puriss.), (LLC “Inter - Synthes”, Boryslav, Ukraine); The content of hydrogen peroxide was determined by SPU according to the monograph “High-test hydrogen peroxide solution 27.5-31.0%

High purity double distilled water was used throughout.

Preparation of 0.2 M Phosphate buffer solution (pH 8.35) 35.75 g Disodium Hydrogen Phosphate dodecahydrate (grade «p.a.»), crystallized ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) was dissolved in 500 mL flask using double-distilled water. 19 mL of 0.1 M solution of Hydrochloric acid solution was added. pH of the final solution was controlled potentiometrically.

Preparation of 10% (wt) Hydrogen peroxide solution. The solution was prepared by the appropriate high-test hydrogen peroxide dilution with double-distilled water. The content of hydrogen peroxide in the working 10% solution was determined by permanganatometric method.

Preparation of 1% (wt) p-Phenetidine hydrochloride solution. p-Phenetidine hydrochloride (p-Ph or Ph), was extracted from the base by Hydrogen Chloride precipitation in the chloroform solution. 1.00 g of p-phenetidine hydrochloride was dissolved in 80 mL of double-distilled water in 100 mL volumetric flask and after the dissolution brought to the mark.

Preparation of Acetylcholine chloride solution (ACh). The ampoule's content 0,02 g of pharmacopoeia drug Acetylcholine Chloride was dissolved in 20 mL of double-distilled water. For that end, an ampoule was opened, 4.0 mL of water was pipetted, and shake until Acetylcholine was completely dissolved. Then the Acetylcholine solution was transferred into 20 mL volumetric flask and the volume was brought to the mark with double-distilled water.

General recommended procedure

The first part: 10.0 mL portion of 0.2 M phosphate buffer solution (pH = 8.3) was transferred into 20 mL graduated test tube with ground plug, 1.0 mL of 1 mg/mL acetylcholine solution was added and then 2.0 mL of 10% hydrogen peroxide solution was added and the stopwatch was switched on. After that the solution was shake thoroughly and was thermostated for 10 min. Then 1.0 mL of 1% p-phenetidine solution was added and brought to the mark with double distilled water in a 20 mL volumetric flask. The stopwatch was switched on and every minute each solution was scanned photometrically for 15 min on photoelectric colorimeter, optical filter No 2 and 1.0 cm cuvette were used. The rate of reaction was determined as a slope of the kinetic curve A vs time $[(\text{ACh} + \text{H}_2\text{O}_2) + p\text{-Ph}]$ ($\text{tg } \alpha, \text{min}^{-1}$).

The second part: 10.0 mL portion of 0.2 M phosphate buffer solution (pH = 8.3) was transferred into 20 mL graduated test tube with ground plug. After that accurate 2.0 ml portion of Cholinesterase was added, then 2.0 mL of 10% hydrogen peroxide solution was added while stirring, shaken up thoroughly and kept for 10 min in a thermostat. Then 1.0 mL of 1% p-phenetidine solution was added and brought to the mark with double distilled water. The stopwatch was switched on and every minute the solution was scanned photometrically for 15 min on photoelectric colorimeter CPC-2, using optical filter No 2 and 1.0 cm cuvette were used. Buffered solution with double distilled water as reference solution was used. The rate of reaction was determined as a slope of the kinetic curve A vs time, $(\text{ChE}) + \text{ACh}$ + $\text{H}_2\text{O}_2 + p\text{-Ph}$, (min^{-1}) switched on a stopwatch, and thermostated for 10 min, $[(\text{ChE}) + \text{ACh}] + \text{H}_2\text{O}_2 + p\text{-Ph}]$ $\text{tg } \alpha_{\text{min}}$ (min^{-1}).

The third part: 10.0 mL portion of 0.2 M of phosphate buffer solution (pH = 8.3) was transferred into 20 mL graduated test tube with ground plug. The accurate volumes (from 0.40 to 3.20 ml) of test solution of DCh (WSS or model solution or a reference solution) were added into a standard flask. 2.0 mL of

Cholinesterase was added while stirring, the stopwatch was switched on, every solution was shaken up thoroughly and thermostated for 10 min, then quickly 1.0 mL of 1 mg/mL Acetylcholine solution was added and the stopwatch was switched on, shaken thoroughly and thermostated for 10 min again, then 2.0 mL of 10% Hydrogen peroxide solution was added, kept for 10 min in thermostat and after 1.0 mL of 1% *p*-phenetidine solution was added and brought to the mark with double distilled water. The stopwatch was switched on and every minute the solution was scanned photometrically for 15 min on photoelectric colorimeter CPC-2, optical filter No. 2 and 1.0 cm cuvette were used. Every time before the experiment the test tube content was shaken and plugged thoroughly. Buffered solution with double distilled water as reference solution was used. The rate of the reaction was determined as a slope of the kinetic curve A vs time [(ChE + Inh) + Ach] + H₂O₂ + *p*-Ph, $tg\alpha_{c_i}(\text{min}^{-1})$.

Preparation of DCh solutions:

- *working standard solution* (WSS): 0.05000 g (accurately weighed) of the working standard sample (WSS) of DCh is dissolved in double distilled water in a volumetric flask with a capacity of 100.0 ml and the volume of the solution is there by reduced to the mark (concentration of 500 µg/ml). Pipette 4.00 ml of the resulting solution, transfer to a volumetric flask of 100.0 ml capacity and bring the volume of the solution with double distilled water to the mark at a temperature of 20 °C, mix thoroughly (concentration 20 µg / ml);
- *model solution*: 1.0058 g (accurately weighed) of the test substance powder dissolved in 40 ml of double distilled water in a 100.0 ml volumetric flask and dilute with water to the mark. Withdraw with a pipette 4.00 ml of the obtained solution and transfer into a 100.0 ml volumetric flask. Then adjust the volume with double distilled water to the mark at 20°C, plug the flask and mix thoroughly.
- *a reference solution* (RS): 0.05000 g (accurately weighed) of the reference standard sample of DCh is dissolved in double distilled water in a volumetric flask with a capacity of 100.0 ml and the volume of the solution is there by reduced to the mark (concentration of 500 µg/ml). Pipette 4.00 ml of the resulting solution, transfer to a volumetric flask of 100.0 ml capacity and bring the volume of the solution with double distilled water to the mark at a temperature of 20 °C, mix thoroughly (concentration 20 µg / ml);

In order to estimate the accuracy and precision of the proposed method, standard solutions of 0.2 µg / ml, 0.3 µg / ml, 0.4 µg / ml, 0.5 µg / ml, 0.6 µg / ml, 0.7 µg / ml, 0.8 µg / ml were analysed according to the recommended procedure. For this purpose, five replicate determinations of each concentration were prepared.

According to the obtained data, the dependence of the degree of inhibition on the concentration of DCh was constructed by the calibration dependence in absolute and normalized coordinates (normalization was performed by comparison solution) of the species and respectively. The least squares method calculated the parameters of the obtained calibration dependences (angular coefficient and its standard deviation, free term and its standard deviation, correlation coefficient and residual standard deviation), which are given in Table. 1.

Table data shows that the parameters constructed in the normalized coordinates of the calibration linear dependence of the DCh determination are characterized by satisfactory linearity for a given range and satisfy the requirements of the maximum permissible uncertainty.

Correctness and precision. To verify the accuracy and precision of the method, an experiment was conducted with a series of model solutions DCh 1 - 7, for which the content of DCh was calculated by the calibration graph and the parameter "found / entered", which was used to calculate the systematic and random errors of the technique (Tab 2).

Table 1: Linearity parameters of the developed method for DCh determination

Parameter	$U = b_1 \times c + a_1$	$Y = b_2 \times X + a_2$	Criteria	Conclusion
b	97.1	1.45	-	-
s_b	0.9	0.01	-	-
a	14.1	-42.00	-	-
s_a	0.5	1.50	-	-
R_c	0.9997	0.9997	> 0.9994	responds
RSD_0	0.49	1.47	< 1.51%	responds
LOD	0.05 µg/mL	10%	< 32%	responds

Data $RSD_{RR} = 1.43\%$, $\Delta_{RR} = RSD_{RR} \cdot t(95\%, n-1) = 2.76$ ($\Delta_{RR} \% \leq \max \Delta_x = 3.05\%$) testify to the satisfactory correctness and precision of the developed method for determining DCh.

General recommended procedure

For determine the quantitative content of DCh in the vaginal tablets “Fluomizin” enzymatic kinetic-photometric method was developed. It is based on the ability of DCh to suppress the catalytic activity of cholinesterase to decompose acetylcholine in biochemical reaction⁽¹⁶⁾. As a result of the inhibition of activity, acetylcholine is created in the tube, unreacted with cholinesterase. The content of DCh is determined by the degree of inhibition of the enzyme reaction. The latter is evaluated for the residual acetylcholine that has not reacted with cholinesterase. Determination of excess acetylcholine in the reaction mixture is performed by kinetic-photometric method. Indicative reaction is the oxidation of *p*-phenetidine by acetic acid, which is formed during the auxiliary reaction of perhydrolysis. An auxiliary reaction takes place when excess hydrogen peroxide is added to the reaction mixture. The result is a colored product - azoxyphenetol ($\lambda_{max} = 358 \text{ nm}$) over a period of time.

The paper⁽¹⁶⁾ describes the process of selecting the optimal experimental conditions.

The pH of 7.5 - 8.5 and the temperature of 37 - 39 °C are found to be optimal for the reaction of enzymatic hydrolysis of ACh in the presence of ChE. The use of phosphate buffer with a pH of 8.2 - 8.5 provides the highest speed of three analytical reactions: enzymatic, auxiliary reaction of perhydrolysis and indicator reaction of oxidation of *p*-Ph.

Calibration graph procedure

Kinetic curves (Fig.1) of analytic indication reaction of *p*-phenetidine oxidation by hydrogen peroxide in the presence of the system: [(ChE + Inh) + Ach] + H₂O₂ + *p*-Ph, [(ChE + Ach) + H₂O₂ + *p*-Ph], ACh+(ChE+DC), [(ACh + H₂O₂) + *p*-Ph] were linear, for the first 15 minutes. This enables the use for assessing of the reaction rate the slope angle tangent (angular coefficient of slope) of the derived kinetic lines, built in the coordinates optical density (A) - time (t, min) min⁻¹ as the value of the analytical signal, corresponding to a certain content of an inhibitor in a sample.

The calibration graph was constructed using the values obtained from seven replicate samples of the same DCh content (Fig. 2). The linear regression equation was as follows: $U (\%) = 97.5 c - 14.1$ (where «c» is the DCh concentration, µg/mL;

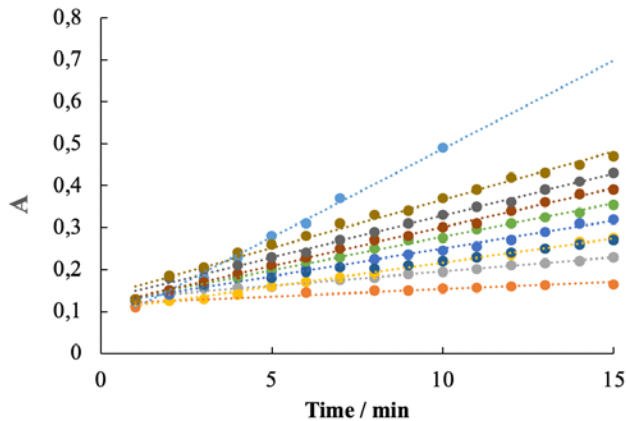


Figure 1. Kinetic curves of the coupled oxidation reaction of p-phenetidide with excess hydrogen peroxide: 1 - ChE + ACh, 2-7 - ACh + (ChE + DCh); c(ACh) = 0.05 mg/mL; [ChE] = 0.25 U; c(DCh), µg/ml: 2 - 0.1, 3 - 0.2, 4 - 0.3, 5 - 0.4, 6 - 0.5, 7 - 0.6, 8 - 0.7, 9 - ACh.

The degree of inhibition of the enzymatic hydrolysis of Acetylcholine U , %, in the presence of DCh was calculated using the formula: $U = (tg\alpha_c - tg\alpha_{min}) / (tg\alpha_{max} - tg\alpha_{min}) \cdot 100\%$ where,

- $tg\alpha_c$ – slope of the kinetic curve A vs time for a procedure [(ChE + Inh) + ACh] + H₂O₂ + p-Ph, (min⁻¹);
- $tg\alpha_{min}$ – slope of the kinetic curve A vs time for a procedure [(ChE + ACh) + H₂O₂ + p-Ph], (min⁻¹);
- $tg\alpha_{max}$ – slope of the kinetic curve A vs time for a procedure [(ACh + H₂O₂) + p-Ph], (min⁻¹).

The calibration curve was linear in the concentration range of 0.2 µg / mL – 0.8 µg/mL of DCh with a correlation coefficient of 0.999. The limit of determination was calculated as 20% degree of ChE inhibition and was 0.35 µg / mL.

Results

The results of the experiments allowed to develop a new method for the quantitative determination of ChE inhibitors in aqueous solutions on the principle: “Inhibitor concentration - the rate of formation of a colored product”. The optimal conditions for the course of the enzyme reaction were studied: the order of mixing, concentration, time of incubation, the influence of the pH of the medium and the nature of the buffer solution.

In the course of work have been showed the dependence of the rate of the enzymatic reaction on the concentration of the substrate of acetylcholine.

According to the obtained data in the range of concentrations ACh 0 - 3.3 · 10⁻⁴M there is a linear relationship between the rate of the enzymatic reaction and the concentration of the substrate, within the concentration ACh 3.3 · 10⁻⁴M - 8 · 10⁻⁴M there is a decrease in the reaction rate, probably due to the saturation of the substrate of the active centers of the enzyme, which agrees well with the literature^[14]. In subsequent studies, the optimal concentration of ACh was taken 3.3 · 10⁻⁴M.

Have showed dependence of the rate of the enzymatic reaction vs the concentration of ChE to.

The linear dependence of the reaction rate on the enzyme concentration is observed in the concentration range of 0.12–0.36 mg / ml (This is 0.25–0.75 ml 4 mg / ml ChE). Therefore, the experiments were performed at a concentration of ChE 0.24 mg / ml.

The results of the study of the effect of hydrogen peroxide concentration are shown, that at concentration of hydrogen peroxide $\geq 1\%$, the rate of the indicator reaction becomes maximum and does not change in the future. The optimal concentration of hydrogen peroxide is 1%.

Excess *p*-Ph (1 %) was used to ensure the conditions of the pseudo-first order course of the *p*-Ph oxidation reaction.

Although for cholinesterase, in contrast to acetylcholinesterase, inhibition by excess substrate is not the main interfering factor in the reaction, we set out to find out at what maximum substrate concentration it is still possible to apply the linearization of the Michaelis-Menten equation $1/v = 1/V_{max} + K_m / (V_{max} \cdot 1/[S])$, which describes a rectilinear dependence, $y = a + b \cdot x$, where $y = 1/v$, $a = 1/V_{max}$ (a segment intersecting a line on the y-axis); $b = K_m / V_{max}$ (the slope of the line), $x = 1/[S]$.

The need for a biochemical reaction with the maximum possible concentration of the substrate follows from our proposed principle of determining the activity of the enzyme - the concentration of undigested substrate: the smaller the substrate will be subjected to enzymatic hydrolytic cleavage, the greater its amount will remain unhydrolyzed - will lead to the formation of a more intense color of the oxidation product of the indicator reaction for a certain predetermined period of time. Dependence of the inverse rate of the enzyme hydrolysis reaction on the inverse concentration of the acetylcholine substrate were $1/v = 39.556 \cdot [S]^{-1} + 0.6091 \cdot 10^{-5}$ ($R = 0.0995$). According to dependence, the values of the maximum enzyme hydrolysis rate were $V_{max} 1.64 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ and Michaelis constant K_m were $6.49 \cdot 10^{-4}$.

Quantitative determination of DCh in vaginal tablets “Fluomizine” 10mg No 6.

5 tablets of “Fluomizine” 10 mg were crashed and 1.00580 g (exact weight) tablets powered dissolve in double distilled water in 100.0 ml (Solution 1). Then, 5 ml of the filtered solution was taken into a 500 ml flask and adjusted to 500 ml with double distilled water. The analysis was carried out according to the *general procedure*.

2.00 ml of the resulting solution was introduced into a 20 ml tube and determined according to the procedure described. Similarly perform the determination with the reference solution (RS).

A continuación ponemos otros párrafos más con texto de relleno, donec hendrerit nisi nec libero sodales, hendrerit congue dui tempor. Pellentesque tempus felis nulla, sodales pretium massa mollis quis. Aliquam tortor urna, finibus interdum lectus eu, tempor consectetur lorem. Vivamus dictum ornare orci, eget condimentum velit scelerisque sit amet. Aenean faucibus risus eu quam malesuada mollis. Praesent faucibus accumsan cursus. Integer dictum pulvinar leo a accumsan.

Vivamus dictum ornare orci, eget condimentum velit scelerisque sit amet. Aenean faucibus risus eu quam malesuada mollis. Praesent faucibus accumsan cursus. Integer dictum pulvinar leo a accumsan.

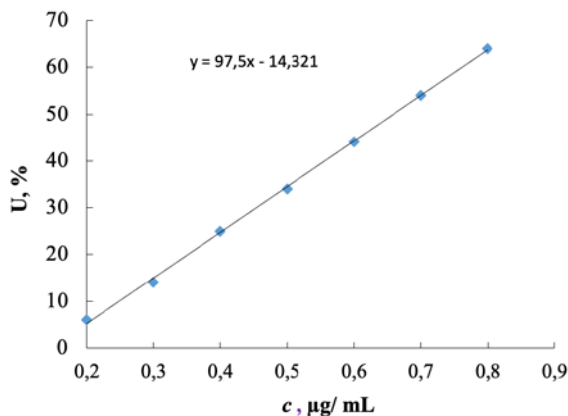


Figure 2. Curve of the graduated dependence inhibition degree (ChE U, %) vs DCh concentration.

Discussion

According to dependence $1/u = 39,556 \cdot [S]^{-1} + 0,6091 \cdot 10^5$, the values of the maximum enzyme hydrolysis rate V_{max} and Michaelis constant K_m were calculated, equal to $1.64 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ and $6.49 \cdot 10^{-4}$.

An enzymatic kinetic-photometric method for the determination content of Dequalinium chloride in vaginal tablets "Fluomizin" No 6 was developed.

References

1. Khurasëva A. Otsenka efektyvnosti lecheniya bakteryalnoho vahynoza vahynalnymi tabletkami s dekvallynyia khlorydom. *Akusherstvo, hynekolohyia y reproduktsyia*. 2018;12(3):29–34. doi.org/10.17749/2313-7347.2018.12.3.029-034
2. Dequalinium for bacterial vaginosis. *Drug and Therapeutics Bulletin*. 2017;55(5):54–57. http://dx.doi.org/10.1136/dtb.2017.5.0478
3. Mendling W., Weissenbacher E., Gerber S., Prasauskas V., Grob P. Use of locally delivered dequalinium chloride in the treatment of vaginal infections: a review. *Archives of Gynecology and Obstetrics*. 2015;293(3):469–484. doi.org/10.1007/s00404-015-3914-8
4. Derzhavnyi reiestr likarskykh zasobiv Ukrainy [http://www.drlz.kiev.ua].
5. Gagliardi L., Cavazzutti G., Tonelli D. Determination of Dequalinium Chloride and Related Impurities in Cosmetics and Pharmaceuticals by Reversed-Phase HPLC. *Analytical Letters*. 1998; 31(5): 829–839. doi.org/10.1080/00032719808002821
6. Taylor R., Toasaksiri S., Reid G., Wood D. Determination of the Quaternary Ammonium Compounds Dequalinium and Cetylpyridinium Chlorides in Candy-based Lozenges by High-performance Liquid Chromatography. *The Analyst*. 1997; 122(9):973–976. doi.org/10.1039/A703893C
7. Chen F.-A., Wu K.-S., Huang M.-C., Chen C.-Ya., Wu A.-B. Simultaneous quantitation of cationic disinfectants by high-performance liquid chromatography on a silica gel column using aqueous eluents. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2001; 9(4):191–198.
8. Fang W.-H., Liu J., Shen J., Zhang L.-J. Determination of dequalinium chloride in dequalinium chloride buccal tablets by HPLC. *Anhui Medical and Pharmaceutical Journa*. 2011; 1(7):837–839.
9. Mohamed H. A. Spectrophotometric Determination of Dequalinium Chloride. *Analytical Letters*. 1993; 26(11):2421–2429. doi.org/10.1080/00032719308017481
10. Leung C. P., & Kwan S. Y. Spectrophotometric determination of dequalinium chloride in pharmaceutical preparations. *The Analyst* 1979; 104(1235): 143–146. doi.org/10.1039/an9790400143
11. Mohamed T. Y., Dossouki H. A., Moustafa M. M., Ghoname M. S. Spectrophotometric methods for the determination of dequalinium chloride and clidinium bromide using ion-pair complex formation with acid dyes. *Egyptian Journal of Chemistry*. 2008; 51(1):113–123.
12. Guilbault G. G., Sadar M. H. Use of enzymes in Analytical Chemistry. Analytical use of enzymes. *Proceedings of the Analytical Division of the Chemical Society*, 1977; 14(10):302–306. doi.org/10.1039/ad9771400302
13. Derzhavna farmakopeia Ukrainy (2015). Vols. 1–3. Vol. 1. 2nd ed. Derzhavne pidpriemstvo «Ukrainskyi naukovyi ekspertnyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv». Kharkiv, 1128.
14. Patent na korysnu model 117474 Ukraina, MPK G01N 33/68 (2006.01), G01 N 21/79(2006.01). Sposib vyznachennia aktyvnosti kholinesterazy krovi / Blazheievskiyi M. Ye., Kovalska O. V., Diadchenko V. V. № u 2017 00721; zaiavl. 26. 01. 17; opubl. 26. 06. 17, Biul. №12. 4 s.

doi: 10.30827/ars.v62i3.17851

Artículos originales

Comparative study of in vitro activities of polymyxin B commercial products on *Pseudomonas aeruginosa* isolated from hospitalized patients

Estudio comparativo de las actividades in vitro de productos comerciales de polimixina B sobre *Pseudomonas aeruginosa* aislada de pacientes hospitalizados

Rezvan Goodarzi¹  0000-0003-0726-7181

Mohammad Taheri¹  0000-0003-4128-8613

Farhad Farahani²  0000-0001-7977-089X

Mahdane Roshani¹  0000-0001-6831-9665

Babak Asghari¹  0000-0002-4038-9618

¹Hamadan University of Medical Sciences, Faculty of Medicine, Department of Microbiology, Hamadan, Iran.

²Hamadan University of Medical Sciences, Department of Ear, Nose and Throat, Hamadan, Iran.

Correspondence

Babak Asghari,
b.asghari@umsha.ac.ir, bab.asghari@gmail.com

Received: 01.01.2021

Accepted: 03.04.2021

Published: 21.06.2021

Funding

This work has been funded by Project 9805013351 and Ethical number IR.UMSHA.REC.1398.351 of the Ministry of Health of Iran

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Resumen

Introducción: La polimixina B se ha aplicado como uno de los antibióticos de último recurso para el tratamiento de la multirresistencia entre las infecciones bacterianas Gram negativas. Debido a efectos secundarios como toxicidad renal, el uso de polimixina se asocia con limitaciones. El presente estudio evalúa la actividad antibacteriana in vitro de varios productos comerciales de polimixina B contra *Pseudomonas aeruginosa*.

Métodos: Este estudio incluyó 63 aislados de *P. aeruginosa* no duplicados que se examinaron para la prueba de susceptibilidad in vitro a la polimixina B utilizando los siguientes discos de polvo: sulfato de polimixina B, otosporina, Poly-Mxb y Myxacort. También se han identificado las MIC₅₀ y MIC₉₀ para los antibióticos de polimixina B.

Resultados: Myxacort tuvo una actividad funcional contra la mayoría de los aislados de *P. aeruginosa*, y sólo siete aislados tuvieron una CIM relativamente alta. Las actividades de Poly-MXb y Myxacort fueron las mismas que las de otosporina.

Conclusiones: Nuestros resultados revelaron que el producto genérico nacional de polimixina B (Myxacort), y dos productos externos (Otosporin, Poly-MXb) son similares en términos de actividad microbiológica.

Palabras clave: *Pseudomonas aeruginosa*; productos con polimixina B; método de microdilución en caldo.

Abstract

Introduction: Polymyxin B has been applied as one of the last-resort antibiotics for the treatment of multidrug resistance among Gram-negative bacterial infections. Due to side effects such as renal toxicity, the use of polymyxin is associated with limitations. The present study evaluates in vitro antibacterial activity of a number of polymyxin B commercial products against *Pseudomonas aeruginosa*.

Methods: This study included 63 non-duplicated *P. aeruginosa* isolates examined for in vitro polymyxin B susceptibility testing using the following powder disks: polymyxin B sulfate, otosporin, Poly-Mxb, and Myxacort. MIC₅₀ and MIC₉₀ have also been identified for polymyxin B antibiotics.

Results: Myxacort had functional activity against most *P. aeruginosa* isolates, and only seven isolates had a relatively high MIC. The activities of Poly-MXb and Myxacort were the same as otosporin.

Conclusions: Our findings revealed that the national generic polymyxin B product (Myxacort), and two external products (Otosporin, Poly-MXb) are similar in terms of microbiological activity.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*, Polymyxin B products, Broth microdilution method.

Introduction

Pseudomonas aeruginosa has been recognized as an important opportunistic pathogen in clinical settings and a major source of multidrug resistance⁽¹⁾. This bacterium causes high mortality in immunocompromised patients and has currently been known as a “superbug” owing to the limited effectiveness of antimicrobial drugs⁽²⁾. Infections due to multidrug-resistant (MDR) *P. aeruginosa*, in particular carbapenem-resistant isolates, are escalating in healthcare facilities and are responsible for nosocomial infections, which may give a rise to fatal outcomes because of limited therapeutic options. The World Health Organization and the Center for Disease Control in Atlanta in the United States unanimously identified carbapenem-resistant *P. aeruginosa* as one of the most significant multidrug resistance pathogenic bacteria. Old antibiotics such as polymyxin (colistin) are growingly used as a last resort treatment for MDR *P. aeruginosa*^(3,4,5).

Multidrug resistance has led to a renewed interest in polymyxins, colistin and polymyxin B, as therapeutic options for clinically important Gram-negative bacilli⁽⁶⁾. The toxicity of such agents was the main reason for the low clinical use in early years. Previously, there has been no need for the detailed investigation of the microbiological and pharmacological properties of polymyxins since more active and efficient alternatives were readily available. These membrane-active drugs have accordingly been replaced by newer and more potent antimicrobials^(2,7,8). However, enhancing resistance to various antibiotics has rendered new drugs unsuccessful against nosocomial pathogens. Thus, exhaustive studies on the efficacy, toxicity, and pharmacokinetics of these agents are necessary. In medical and veterinary medicine, the broad use of antibiotics has contributed to the development of drug resistance. As a result, combination therapy and more successful treatments are being sought for serious infections.

Pharmaceutical products, especially antibiotics, must comply with the quality, efficacy, and reliability standards set by competent authorities. In recent decades, the quality and efficacy of generic antibiotics are topics extensively discussed in research communities. Hence, investigation of these antibiotics using biological assays is of paramount importance, and commercial products necessarily have to be similar to the global composite reference standard^(9,10). Although polymyxin B has been available for decades, the pharmacological knowledge of this drug remains considerably limited and constitutes a major barrier to its effective use⁽¹¹⁾. To understand the susceptibility of commonly isolated *P. aeruginosa* to polymyxin in Iran, we investigated the evaluation of in vitro antibacterial activity of polymyxin products, including those frequently cause various infections in Iranian hospitals, against *P. aeruginosa*.

Materials and methods

Materials

Generic polymyxin products were acquired from local pharmacies approved by Iran Food and Drug Administration for the industrial use. The generic drugs applied in this study include Otopsporin (GlaxoSmithKline, UK), Poly-Mxb (Bharat Serums & Vaccines Ltd., India), and Myxacort (Sina, Iran), which their detailed information is available in Table 1. A reference standard, polymyxin B sulfate (CAS number 1405-20-5; Sigma-Aldrich, USA), was also used for biological tests.

Table 1. Polymyxin products, pharmaceutical dosage form, and manufacturer

Polymyxin product (code)	Presentation	Manufacturer
Analytical standard	Polymyxin B sulfate, powder	Sigma-Aldrich
Generic A	Polymyxin B sulphate 10,000 U/mL + Neomycin sulphate 3,400 U/ mL + Hydrocortisone 1.0% w/v	GlaxoSmithKline
Generic B	Polymyxin B 500000 IU	Bharat Serums & Vaccines Ltd, India
Generic C	Polymyxin B sulfate: 10'000 U/mL+ Neomycin sulfate: 5 mg/mL + Hydrocortisone: 10 mg/ML	Sina, Iran

Bacterial strains

A total of 63 isolates of *P. aeruginosa* were collected from inpatients in Besat Hospital in Hamadan, Iran from June 2019 to September 2019. Conventional biochemical tests, such as oxidase, growth in oxidation fermentation (OF) medium, and pigment production, identified the isolates obtained. The API 20NE system (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) was then used for the final identification of isolates.

Antimicrobial susceptibility testing

Antimicrobial susceptibility testing was conducted with the following antibiotics: amoxicillin/clavulanic acid, cefotaxime, ceftriaxone, aztreonam, tetracycline, ceftazidime, and cefepime (30 µg of each), colistin, gentamicin, imipenem, and Polymyxin B (10 µg of each), and ciprofloxacin (5 µg). The test was accomplished as per the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2018 guidelines⁽¹²⁾.

Potency determination using the disk diffusion (DD) method

All the isolates were tested for in vitro polymyxin B susceptibility using the powder disks made from polymyxin B sulfate, Otosporin, Poly-Mxb, and Myxacort products. Sterile blank disks were saturated with 20 µl of each stock polymyxin B product. After being dried, the disks were ready for DD test. The standard product was utilized to compare commercially available antibiotic disks (polymyxin B; MAST, UK)⁽¹³⁾.

Determination of minimum inhibitory concentration (MIC)

The susceptibility testing was conducted using the broth microdilution (BMD) method as recommended by the CLSI guideline⁽¹²⁾. Mueller Hinton Broth (MHB; 100 µl) was added to the rows 2-12 of a 96-well microtitre plate. Thereafter, 200 µl of the various polymyxin B products was added to row 1 and then serially diluted through row 10. No polymyxin B products were added to row 11, which served as a growth control. After culturing on the Mueller Hinton Agar plates, *P. aeruginosa* was incubated at 37 °C for 18 h. Subsequently, colonies were separately transferred to a test tube. The separated colonies were inoculated into the MHB (5 mL), which was then incubated at 35 °C for 4 h. By applying the 0.5 McFarland standard, the adjustment of the turbidity of an active growing broth culture with a sterile broth was accomplished. Then the bacterial suspension was diluted 1:100 using the appropriate broth to achieve a final concentration about 5×10^5 CFU/ml. The bacterial cells (100 µl) was added to each well on the panel, resulting in a final volume of 200 µl. The purity of each isolate was checked by adding a sample of each isolate to the microtitre panel and inoculating a fresh agar plate. Both the purity plates and the microtitre panels were incubated at 35 °C for 16-20 h. In the end, broth microdilution method was conducted, and assays were performed by the aid of MHB. The concentrations of polymyxin B (i.e. polymyxin B sulfate, Otosporin, Poly-Mxb, and Myxacort products) were in the range of 0.25-1024 µg/µl. The microtitre panels were removed from the incubator after 16-20 h and read. Control strains included *Escherichia coli* ATCC 25922 and *P. aeruginosa* ATCC 27853.

Statistical analysis

Chi-square was used to compare the in vitro activity of various polymyxin B products in *P. aeruginosa* isolates and was performed triplicate. SPSS version 16 was applied for statistical analysis. Probabilities (p values) less than 0.05 were considered as statistically significant.

Results

The isolates were collected from different infection sites of patients hospitalized in several wards. *P. aeruginosa* isolates were most often recovered from burn wounds (41.26%), blood (20.64%), catheter (15.88%), urine (14.29%), and discharges (7.94%). The frequency of antibiotic resistance in the isolates of *P. aeruginosa* is shown in Figure 1. The highest and lowest resistance was observed for ceftriaxone (65.07%) and amikacin (33.33%), respectively. Polymyxin B demonstrated significant in vitro antimicrobial activity against all the *P. aeruginosa* isolates, which were susceptible to colistin. In addition, 99.1% of the isolates were susceptible to polymyxin B. Among the 63 *P. aeruginosa* isolates, 42 isolates

indicated simultaneous resistance to six antibiotics (aztreonam, cefotaxime, amoxicillin-clavulanic acid, gentamicin, ceftriaxone, and ceftazidime). Disks made of three types of polymyxin B products (Otosporin, Poly-Mxb, and Myxacort) showed similar antibacterial activity compared to the standard polymyxin B disk (MAST, UK; Table 2). Wound infection was the main source of polymyxin-resistant *P. aeruginosa* (Figure 2). MICs of polymyxin B products for all *P. aeruginosa* isolates are shown in Figure 3. Otosporin had functional activity against most *P. aeruginosa* isolates, and seven isolates had a relatively high MIC ($\geq 2 \mu\text{g/mL}$). Poly-Mxb and Myxacort had similar activity with otosporin. Polymyxin B sulfate compared to other generic drugs, e.g. Poly-Mxb and Myxacort (and otosporin, demonstrated a higher MIC₅₀ level (Figure 3).

Table 2. Comparison of the concentration of polymyxin B products in the disks prepared manually with standard polymyxin B disk.

StPolymyxin B	Polymyxin B sulfate	Otosporin	Poly-Mxb	Myxacort
300 U	30 $\mu\text{g}/20\mu\text{l}$	300 U/20 μl	50 U/20 μl	310 U/20 μl

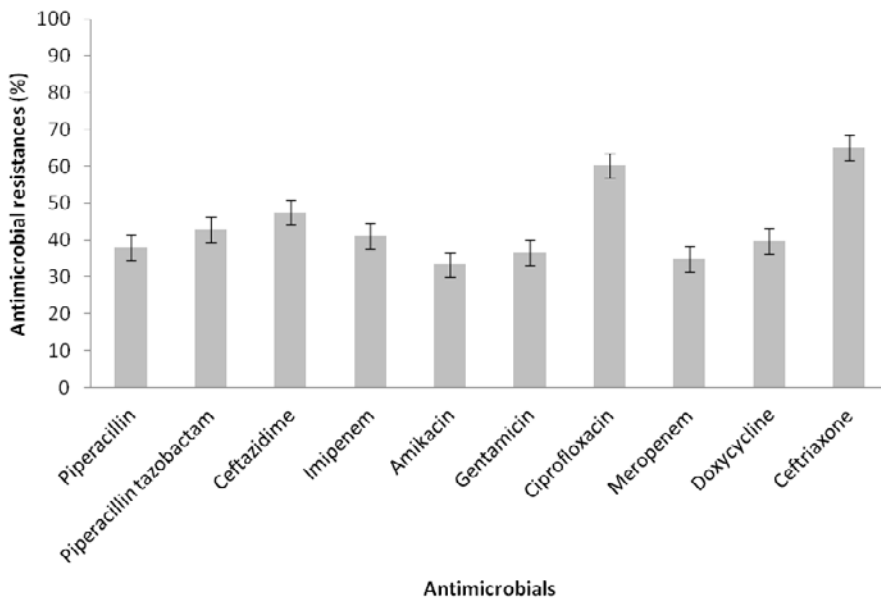


Figure 1. Antibiotic resistances pattern of *Pseudomonas aeruginosa*. No significant difference was seen in antibiotic resistances pattern in *P. aeruginosa* isolates from different sources.

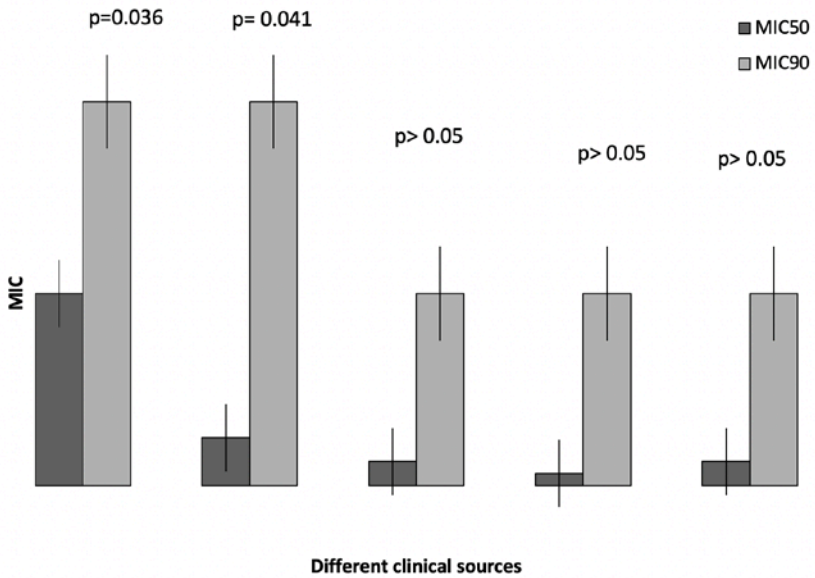


Figure 2. MIC₅₀ and MIC₉₀ of polymyxin B sulfate for *Pseudomonas aeruginosa* isolated from different clinical sources.

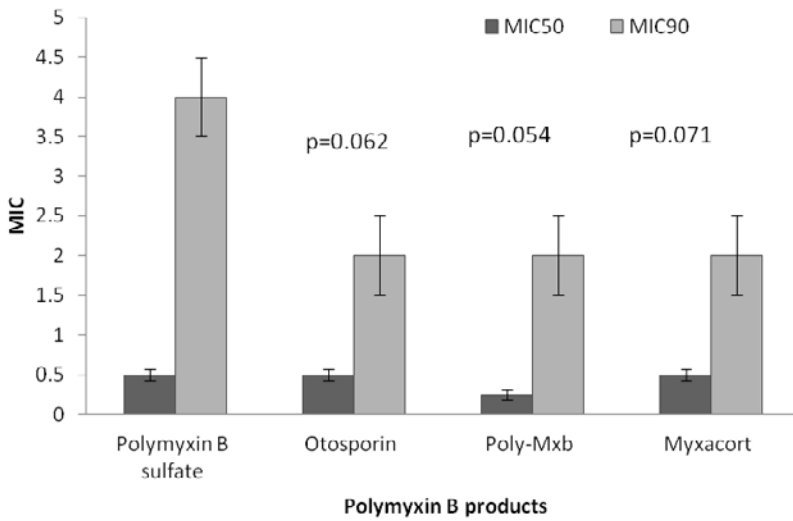


Figure 3. Comparative in vitro activity of polymyxin B products against *Pseudomonas aeruginosa* isolates.

Discussion

Polymyxins are known to target the outer membrane of Gram-negative bacteria by displacing divalent calcium and magnesium ions from the negatively charged phosphate groups of membrane lipids. This process causes the destabilization of the lipopolysaccharide (LPS) and the membrane, leading to the leakage of cytoplasmic contents and bacterial cell death. Although a clear mechanism of action is not known, polymyxins have been suggested to be capable of binding to endotoxin, which is the lipid A portion of the LPS and neutralizes LPS during cell lysis. Polymyxins have bactericidal effect against several Gram-negative pathogens such as *E. coli*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter spp.*, *Salmonella spp.*, and *Shigella spp.* Until recently, the mechanisms of reported polymyxin resistance have been chromosomally mediated that result in LPS modifications, formation of capsules, and overexpression of outer membrane protein OprH, thereby conferring resistance in Gram-negative bacteria^(13,14). In 2015, a plasmid-mediated polymyxin resistance mechanism (MCR-1) was reported in *Enterobacteriaceae*, which is further compromising and threatening the treatment using polymyxin antibiotics⁽¹⁵⁾.

Antibiotic resistance is a growing public health problem worldwide, and the resistance pattern of microorganisms mainly differs in varied communities. Therefore, it is crucial to specifically plan for diminishing the resistance of antibiotics, particularly those most widely used for treatment^(17,18). Studies have suggested that polymyxin B is an effective agent for treating *P. aeruginosa* infections. Polymyxin B has long been utilized as a topical agent for the treatment of conjunctivitis, otitis, and infectious surgical complications, especially osteomyelitis^(19,20). The emergence of polymyxin resistance among *P. aeruginosa* clinical isolates has recently raised the concern that effective antimicrobial treatment options for these isolates can severely be limited in the future.

A comparison of our study results those from similar studies in other countries displays that in vitro polymyxin B is highly active against all clinical isolates of *P. aeruginosa*^(21,28). Only for *P. aeruginosa* isolates, an excellent level of concordance has been found between the two generic polymyxin B products (Myxacort and Poly-Mxb) and otosporin. The level of essential agreement achieved for all *P. aeruginosa* isolates from otosporin was more than 90%. For all *P. aeruginosa* isolates, similar results were obtained from the antimicrobial susceptibility test, which was performed by Mast Company.

Our studies uncovered that Myxacort and Poly-Mxb have the same antibacterial potential. Disks made from different polymyxin B products seem to have problems interpreting the results due to the combination of additional compounds with polymyxin. MIC testing was performed using commercially available polymyxin B sulfate powders. The discrepancy in the relative proportions of the mixture constituents between the powder disks and the producers seems to be due to the additional components in the generic polymyxin B compared to polymyxin B sulfate.

The DD test, a simple and an inexpensive method for screening a large number of isolates, is used to determine the antimicrobial susceptibility in many clinical laboratories⁽²⁵⁾. However, the weak and slow diffusion of polymyxins through agar is associated with small zones of growth inhibition and significant assay variation, negating the use of this method for susceptibility testing. In fact, the predictive accuracy of the DD test is unacceptable, and consequently, no reliable correlation of zone diameters with MICs has been found in many previous studies. The difficulty in differentiating the inhibition zone diameters has been illustrated by Jerke et al.⁽²⁶⁾ who compared a *P. aeruginosa*-resistant isolate of 10 mm diameter with a susceptible isolate of 11 mm diameter; both isolates were categorized as susceptible with BMD MICs of ≤ 0.25 $\mu\text{g/ml}$.

At the same time, MICs achieved by the broth microdilution with refined forms of the main constituents of polymyxin B were found to be within a \log_2 dilution of the MICs achieved from the US Pharmacopoeia polymyxin B sulfate powder mixture⁽²¹⁾. These data implies that the composition of the powder possibly does not affect polymyxin susceptibility testing. Broth dilution is a method in which a predetermined concentration of the bacterial suspension is tested against different levels of the antimicrobial agent in a predetermined liquid medium. For testing polymyxin antimicrobial susceptibility, it is currently the only procedure approved by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)⁽⁵⁾. The broth microdilution method is per-

formed by a cation-adjusted MHB, twofold dilutions of polymyxin B (ranging from 0.12 to 512 µg/mL), and a final bacterial inoculum of $5 \sim 10^5$ CFU/mL in each well, according to the CLSI guidelines. Broth microdilution is recognized as an optimal method and is presently recommended for susceptibility testing in the recent document proposed by the joint CLSI-EUCAST Polymyxin Breakpoints Working Group^(23,27). However, this approach is time-consuming, and antibiotic solutions can cause significant errors in manual preparation (if the technique used is unautomated). It is, therefore, unadaptable to most clinical microbiology laboratories. Non-reproductive and non-interpretable MIC findings for *Enterobacter* species, *P. aeruginosa* and *A. baumannii*, have also been reported owing to the presence of skip wells, i.e. those that do not show growth, but growth is observed in wells with higher antibiotic concentrations^(18,23,24). Moreover, some technical issues for testing have been reported using Broth microdilution method. Polymyxins readily adhere to the plastic trays, leading to decreased antibiotic concentrations actually being present in the MHB dispensed in the wells. The addition of a surfactant, such as polysorbate 80 (P-80), limits polymyxin adhesion to the BMD panels. It has also been demonstrated that it possesses a synergistic effect on polymyxins and has antibacterial activity of its own. Nonetheless, CLSI or EUCAST guidelines do not currently recommend using P-80 for polymyxin B susceptibility testing by BMD⁽²⁵⁾.

Antibiotic activities should be tested *in vitro* and *in vivo* to confirm their suitability for clinical application. Pharmaceutical equivalence or MIC value systems of any generic product is/are invalid requirements for equal treatment. In view the fact that MIC breakpoints for Gram-negative and Gram-positive bacteria in polymyxin B products (Myxacort, Poly-Mxb, and Otosporin) have not yet been acquired, it remains unclear whether the *in vitro* efficacy of antibacterial drugs predicts the clinical outcome. To achieve this goal, all the generic polymyxin B products are required to be checked *in vivo*. It would be better to perform further tests for *in vivo* use of Myxacort and Poly-Mxb, an activity against different species, stability, etc.

Considering the similarity of the national generic polymyxin B product (Myxacort) and the external products (Poly-MXb and otosporin), it is rationale to conclude that these products have the same microbiological actions, as evaluated by DD and MIC tests. We suggest the preparation of antibiotic powder disks in developing countries that can be used in the absence of standard disks in microbiological activity. These findings need to be further investigated and confirmed *in vivo*.

Acknowledgment

The authors thank our colleagues in the medical laboratory and Burn Ward of Besat Hospital, Hamadan, Iran for their cooperation in collecting environmental and clinical samples.

References

1. Cerceo E, Deitelzweig SB, Sherman BM, Amin AN. Multidrug-resistant gram-negative bacterial infections in the hospital setting: overview, implications for clinical practice, and emerging treatment options. *Microb Drug Resist* 2016; 22(5): 412-31. doi: 10.1089/mdr.2015.0220
2. Velkov T, Thompson PE, Nation RL, Li J. Structure activity relationships of polymyxin antibiotics. *J Med Chem* 2010; 53(5): 1898-916. doi: 10.1021/jm900999h.
3. Karaiskos I, Lagou S, Pontikis K, Rapti V, Poulakou G. The “old” and the “new” antibiotics for MDR gram-negative pathogens: for whom, when, and how. *Front Public Health* 2019; 7: 151. doi: 10.3389/fpubh.2019.00151
4. Zhang L, Dhillon P, Yan H, Farmer S, Hancock RE. Interactions of Bacterial Cationic Peptide Antibiotics with Outer and Cytoplasmic Membranes of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44(12): 3317-21. doi: 10.1128/aac.44.12.3317-3321.2000.

5. Poirel L, Jayol A, Nordmann P. Polymyxins: Antibacterial Activity, Susceptibility Testing, and Resistance Mechanisms Encoded by Plasmids or Chromosomes. *Clin Microbiol Rev* 2017; 30(2): 557-96. doi: 10.1128/CMR.00064-16.
6. Li Z, Cao Y, Yi L, Liu JH, Yang Q. Emergent Polymyxin Resistance: End of an Era? *Open Forum Infect Dis* 2019 Oct 1; 6(10). pii: ofz368. doi: 10.1093/ofid/ofz368
7. Garg SK, Singh O, Juneja D, et al. Resurgence of polymyxin B for MDR/XDR gram-negative infections: An overview of current evidence. *Crit Care Res Pract* 2017; 2017: 3635609. doi: 10.1155/2017/3635609
8. Li B, Webster TJ. Bacteria antibiotic resistance: New challenges and opportunities for implant-associated orthopedic infections. *J Orthop Res* 2018; 36(1): 22-32. doi: 10.1002/jor.23656
9. Velkov T, Roberts KD, Nation RL, Thompson PE, Li J. Pharmacology of polymyxins: new insights into an 'old' class of antibiotics. *Future Microbiol* 2013; 8(6): 711-24. doi: 10.2217/fmb.13.39
10. Hermsen ED, Sullivan CJ, Rotschafer JC. Polymyxins: pharmacology, pharmacokinetics, pharmacodynamics, and clinical applications. *Infect Dis Clin North Am* 2003; 17(3): 545-62. doi: 10.1016/s0891-5520(03)00058-8.
11. Dafale NA, Semwal UP, Rajput RK, Singh GN. Selection of appropriate analytical tools to determine the potency and bioactivity of antibiotics and antibiotic resistance. *J Pharm Anal* 2016; 6(4): 207-13. doi: 10.1016/j.jpha.2016.05.006
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fifth informational supplement. Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018.
13. Krishnamurthy M, Lemmon MM, Falcinelli EM, Sandy RA, Dootz JN, Mott TM, Rajamani S, Schaecher KE, Duplantier AJ, Panchal RG. Enhancing the antibacterial activity of polymyxins using a nonantibiotic drug. *Infection and drug resistance*. 2019;12:1393. doi: 10.2147/IDR.S196874.
14. Olaitan AO, Morand S, Rolain JM. Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria. *Frontiers in microbiology*. 2014;5:643. doi: 10.3389/fmicb.2014.00643.
15. Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, Zhang R, Spencer J, Doi Y, Tian G, Dong B, Huang X, Yu LF. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *The Lancet infectious diseases*. 2016;16(2):161-8. doi: 10.1016/S1473-3099(15)00424-7
16. Andrews JM. Determination of minimum inhibitory concentrations. *J Antimicrob Chemother* 2001; 48(Suppl 1): 5-16. doi: 10.1093/jac/48.suppl_1.5.
17. Sader HS, Rhomberg PR, Flamm RK, Jones RN. Use of a surfactant (polysorbate 80) to improve MIC susceptibility testing results for polymyxin B and colistin. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2012; 74(4): 412-4. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2012.08.025
18. Prestinaci F, Pezzotti P, Pantosti A. Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon. *Pathog Glob Health* 2015; 109(7): 309-18. doi: 10.1179/2047773215Y.0000000030
19. Chojnacki M, Philbrick A, Wucher B, et al. Development of a broad-spectrum antimicrobial combination for the treatment of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* corneal infections. *Antimicrob Agents Chemother* 2018; 63(1): e01929-18. doi: 10.1128/AAC.01929-18.
20. Doi Y. Treatment Options for Carbapenem-resistant Gram-negative Bacterial Infections. *Clin Infect Dis* 2019; 69 (Suppl 7): S565-S575. doi: 10.1093/cid/ciz830. Simar S, Sibley D, Ashcraft D, Pankey G. Colistin and polymyxin B minimal inhibitory concentrations determined by E-test found unreliable for gram-negative bacilli. *Ochsner J* 2017; 17(3): 239-42. doi: 10.1043/1524-5012-17.3.239
21. Turlej-Rogacka A, Xavier BB, Janssens L, et al. Evaluation of colistin stability in agar and comparison of four methods for MIC testing of colistin. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2018; 37(2): 345-53. doi: 10.1007/s10096-017-3140-3.

- 22.** Doymaz MZ, Karaaslan E. Comparison of antibacterial activities of polymyxin B and colistin against multidrug resistant Gram negative bacteria. *Infect Dis (Lond)* 2019; 51(9): 676-82. doi: 10.1080/23744235.2019.1640386.
- 23.** Ezadi F, Ardebili A, Mirnejad R. Antimicrobial susceptibility testing for polymyxins: challenges, issues, and recommendations. *Journal of clinical microbiology*. 2019;57(4). doi: 10.1128/JCM.01390-18
- 24.** Jerke KH, Lee MJ, Humphries RM. Polymyxin susceptibility testing: a cold case reopened. *Clinical Microbiology Newsletter*. 2016;38(9):69-77. doi:10.1016/j.clinmicnews.2016.04.003
- 25.** http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/General_documents/Recommendations_for_MIC_determination_of_colistin_March_2016.pdf.
- 26.** Gales AC, Jones RN, Sader HS. Global assessment of the antimicrobial activity of polymyxin B against 54 731 clinical isolates of Gram-negative bacilli: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme (2001–2004). *Clinical microbiology and infection*. 2006;12(4):315-21. doi: 10.1111/j.1469-0691.2005.01351.x.
- 27.** Wilhelm CM, Nunes LD, Martins AF, Barth AL. In vitro antimicrobial activity of imipenem plus amikacin or polymyxin B against carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 2018;92(2):152-4. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2018.05.004.
- 28.** Kvitko CH, Rigatto MH, Moro AL, Zavascki AP. Polymyxin B versus other antimicrobials for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2011;66(1):175-9. doi: 10.1093/jac/dkq390


doi: 10.30827/ars.v62i3.17924


Artículos originales

Role-play para la atención farmacéutica en la pandemia COVID-19 como método de enseñanza para los estudiantes de Farmacia y Bioquímica

Role-play for Pharmaceutical Care in the Pandemic COVID-19 as a teaching method for students of Pharmacy and Biochemistry

Héctor Alexander Vilchez-Cáceda¹  0000-0001-7094-0821

Luis Adolfo Cervantes-Ganoza²  0000-0001-6090-6750

Miguel Ángel Inocente-Camones^{1,3}  0000-0003-0397-4356

Ketty Rojas-Berastein¹  0000-0001-8521-5737

¹Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica, Lima, Perú.

²Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Facultad de Estomatología, Lima, Perú.

³Universidad Científica del Sur, Maestría en Educación Superior con mención en Investigación y Docencia Universitaria, Lima, Perú.

Correspondencia

Héctor Alexander Vilchez-Cáceda
hvilchezc@uigv.edu.pe

Received: 08.01.2021

Accepted: 28.03.2021

Published: 21.06.2021

Financiación

El trabajo de investigación ha sido financiado por la Universidad Inca Garcilaso de la Vega.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Resumen

Introducción: La pandemia por COVID-19 ha obligado la educación universitaria bajo una modalidad de aprendizaje a distancia en línea. La Atención Farmacéutica en la pandemia COVID-19, implica la intervención del Químico Farmacéutico para el apoyo al usuario en la entrega del medicamento y acompañamiento de la terapéutica desde la Oficina Farmacéutica; por ello el juego de roles es parte de una serie de estrategias de tipo participativa a eventos concretos y es positivo para fomentar competencias de trabajo cooperativo en estudiantes.

Método: El diseño es experimental al azar controlado, dos equipos como control y un equipo experimental. Los datos cuantitativos (calificación) y cualitativos (sondeo de satisfacción) estuvieron agrupados para determinar el efecto del role-play en los estudiantes.

Resultados: La calificación fue mayor en el equipo experimental comparado con los controles. El estudio cualitativo del equipo experimental señala a los estudiantes como satisfechos en el proceso realizado, el rol del docente, el desempeño en equipo y el periodo fijado.

Conclusiones: El uso de role-play demostró ser una herramienta importante para la enseñanza de atención farmacéutica en plataformas virtuales durante la pandemia de COVID-19 favoreciendo el feed-back de los conocimientos y facilita la valoración de la respuesta de los estudiantes y sus reacciones en el entorno de eventos de acuerdo con la realidad social.

Palabras clave: Atención Farmacéutica; COVID-19; Juego de Roles; Técnica de Aprendizaje; Oficina Farmacéutica.

Abstract

Introduction: The COVID-19 pandemic has forced university education into an online distance learning mode. The Pharmaceutical Care in the COVID-19 pandemic, involves the intervention of the Pharmaceutical Chemist for user support in the delivery of the drug and accompaniment of the therapeutic from the Pharmaceutical Office, so the role-playing is part of a series of participatory strategies to specific events and is positive to encourage cooperative working skills in students.

Method: The design is experimental randomized controlled, with two teams as controls and one experimental team. Quantitative (scoring) and qualitative (satisfaction survey) data were pooled to determine the effect of role-play on students.

Results: The score was higher in the experimental team compared to the controls. The qualitative study of the experimental team shows students as satisfied with the process carried out, the teacher's role, team performance, and the period set.

Conclusions: The use of role-play proved to be an important tool for teaching pharmaceutical care in virtual platforms during the COVID-19 pandemic, favouring the feed-back of knowledge and facilitating the assessment of students' response and their reactions in the event environment according to social reality.

Keywords: Pharmaceutical Care; COVID-19; Role Play; Learning Technique; Pharmaceutical Office.

Puntos clave

¿Qué se sabe sobre el tema?

El role-play como método de enseñanza y aprendizaje de la atención farmacéutica ha sido utilizado en diversas universidades, con la finalidad de establecer la relación estrecha entre el farmacéutico y el paciente o usuario; lo cual genera competencias en la atención farmacéutica comunitaria, clínica, hospitalaria y en la Oficina Farmacéutica.

¿Qué añade el estudio realizado a la literatura?

La estrategia educativa didáctica mediante el role-play usando plataformas virtuales asemeja a la atención farmacéutica de forma presencial, considerando una interacción cercana entre el profesional farmacéutico y el usuario.

¿Cuáles son las implicaciones prácticas de los resultados obtenidos?

La enseñanza y aprendizaje para la práctica de la atención farmacéutica, mediante la aplicación del role-play a través de plataformas virtuales ha evidenciado cualitativa y cuantitativamente la innovación didáctica, el feed-back del conocimiento y las competencias requeridas en los estudiantes de Farmacia y Bioquímica en tiempos de COVID-19.

Introducción

El farmacéutico se desempeña en las Oficinas Farmacéuticas, lugares donde se dispensa al usuario de productos farmacéuticos para mantener, prevenir y mejorar su estado de salud⁽¹⁾. La atención farmacéutica se expresa como «el acompañamiento de la terapéutica medicamentosa de los usuarios⁽²⁾». Al ser las oficinas farmacéuticas uno de los establecimientos primarios a los que visitan los usuarios para solicitar referencias del COVID-19, el farmacéutico debe brindar información efectiva y precisa^(3,4). En tal sentido, la Atención Farmacéutica va más allá del conjunto de las disposiciones, los roles y las capacidades del farmacéutico.

En la Atención Farmacéutica, el farmacéutico debe tener la capacidad de relacionarse y dominar las habilidades de comunicación de la manera más efectiva^(4,5). Esta labor en el estudiante universitario de Farmacia y Bioquímica genera una serie de inquietudes, impactando en su habilidad para iniciar una interacción con el usuario^(6,7). Esto hace que el estudiante no pueda brindar su máxima capacidad para obtener un desempeño adecuado y preciso^(8,9).

A nivel universitario, los modelos educativos tradicionales han generado rigidez en los procesos de transferencia de información de los docentes a sus estudiantes⁽¹⁰⁾. Asimismo, ante un universo que rápidamente se va transformando, el modelo educativo constructivista y socioformativo se presenta como la solución idónea para brindar a los estudiantes una serie de instrumentos de autoaprendizaje relacionado con los problemas sociales de su comunidad⁽¹¹⁾.

El progreso de las habilidades por competencias en estudiantes, no solo deben fomentarse desde las sesiones teóricas, sino estructurar modelos educativos basados en el estudiante, donde la enseñanza se entienda como producto del lazo entre las relaciones emocionales, intelectuales, de comunicación y sociales⁽¹¹⁻¹⁵⁾. Por ello, las programaciones educativas para la enseñanza activa se amoldan a un patrón de aprendizaje donde el rol principal le compete al estudiante, quien crea sus aprendizajes a partir de modelos basados en el aprendizaje activo⁽¹⁶⁻¹⁹⁾.

En la educación, la pandemia por COVID-19 ha originado la clausura de los eventos presenciales con la meta de prevenir la diseminación del virus⁽²⁰⁻²²⁾. Sucedió también en el Perú, lo que ha conllevado al aprendizaje a distancia en línea, a través de plataformas virtuales, siendo fundamental brindar a los estudiantes nuevas estrategias didácticas para estimular su desarrollo profesional que se acoplen a las plataformas virtuales involucrándolos en eventos rigurosamente elaborados para facilitar la interacción estudiante-usuario⁽²³⁾.

El juego de roles (role-play) es un procedimiento útil para administrar situaciones donde se debe utilizar variadas posturas para una mejor comprensión^(12,24-26) y se puede acoplar con las plataformas virtuales, trasladando sucesos sociales en la clase^(8,24).

El role-play presenta reglas en las cuales los estudiantes deben adaptarse, con libertad para desenvolverse en uno o más roles que escenifiquen^(9,13,25). Por un momento, los estudiantes dejan su identidad y adaptan otra con el propósito de solucionar un problema propuesto^(14,27). Por ello, se considera una metodología apropiada para gestar empatía y para entender las necesidades de la población^(15,16). En la práctica el role-play estimula que los estudiantes entiendan su propio comportamiento y de otros individuos en eventos elaborados y apoya al desarrollo de habilidades académicas y laborales en la especialización^(17,18,28-30).

El objetivo es evaluar el desempeño académico de los estudiantes de Farmacia y Bioquímica involucrados y no involucrados a role-play, y calificar su grado de satisfacción cuando aplican esta metodología en la pandemia COVID-19.

Métodos

Se realizó un diseño experimental al azar y controlado, donde la dimensión fue la técnica de role-play. La población de estudio fueron 105 estudiantes matriculados en el semestre académico 2020-I de la asignatura de Atención Farmacéutica de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, de Lima, Perú, que considera cuatro horas de prácticas en 17 semanas totales.

Se dividieron en tres secciones con intervenciones simultáneas: un equipo experimental y dos equipos control. Los equipos controles son similares ($E_{c1}=35$, $E_{c2}=35$), siendo la única variable el docente que lidera la actividad. Los equipos controles fueron sometidos a los modelos educativos tradicionales donde el docente desarrolló sus clases explicativas con diapositivas y el equipo experimental ($E_{e3}=35$) fue sometido a role-play.

Los estudiantes fueron muestreados según categoría alfabética, considerando uniformidad de género en cada equipo (tabla 1). Los equipos estuvieron sometidos a un solo sílabo (cuatro unidades) y a las programaciones académicas dispuestas en la asignatura.

La ejecución del role-play se efectuó entre las semanas 14 y 15 correspondiente a la cuarta unidad del sílabo para involucrar todo el contenido de las unidades I, II y III. Los casos fueron entregados al equipo experimental en la semana 12 con el fin de facilitar el tiempo para conseguir sus implementos de personificación. Cada equipo recibió cuatro casos clínicos, con 10 preguntas por caso.

Tabla 1. Distribución de estudiantes por género y por equipos, matriculados en la asignatura de Atención Farmacéutica en el semestre académico 2020-I

Equipos de estudiantes	Género	Cantidad
Equipo control ($E_{c1} = 35$)	Femenino	25
	Masculino	10
Equipo control ($E_{c2} = 35$)	Femenino	22
	Masculino	13
Equipo experimental ($E_{e3} = 35$)	Femenino	27
	Masculino	08

En la elaboración de cada caso clínico se consideraron los problemas de salud con mayor prevalencia que son atendidos en las oficinas farmacéuticas, como la hipertensión arterial, diabetes mellitus, automedicación y enfermedades respiratorias⁽³⁻⁵⁾. Los casos clínicos fueron elaborados con la finalidad de involucrar la enfermedad, el fármaco, los análisis clínicos y la sospecha de COVID-19; también abordan procedimientos, dispensación y seguimiento farmacoterapéutico. Los casos clínicos fueron solucionados en equipos conformados por cinco estudiantes.

En los equipos controles, los estudiantes debían dar solución al cuestionario de los casos clínicos propuestos, para después ser expuestos y revisados por el docente. En el caso del equipo experimental, los estudiantes tenían que escenificar los casos propuestos asumiendo roles como usuario o como farmacéutico.

Para la escenificación se consideró un tiempo máximo de 15 minutos (tiempo promedio de atención a un usuario en una oficina farmacéutica), donde el estudiante debía brindar un trato empático con el usuario, considerando los conocimientos aprendidos sobre atención farmacéutica, dispensación y seguimiento farmacoterapéutico; incluyendo la sintomatología y transmisión del COVID-19, los cuidados según la edad, problemas relacionados con los medicamentos, interacciones medicamento-alimento y dimensiones afectivo-sociales de la interrelación usuario-Químico Farmacéutico.

Luego de cada escenificación, se realizó la calificación a cargo de los jurados pares acerca de las bases farmacológicas empleadas, las dimensiones deontológicas y la función del farmacéutico. Culminada las escenificaciones del equipo experimental y calificados los casos clínicos en los equipos controles, se efectuó la calificación total sobre el aprendizaje, para lo cual se realizaron dos pruebas grupales a todos los equipos, cada uno al término de cada sesión de clase y una prueba final por estudiante al término del semestre académico.

Las pruebas grupales se basaron en preguntas abiertas sobre los casos clínicos (un cuestionario cada dos casos); estos fueron completados en equipo conformados por cinco estudiantes. Las pruebas se formularon con cuatro casos clínicos parecidos a los realizados en role-play. En la prueba, el equipo debía completar uno de los cuatro casos clínicos.

La evaluación final se confeccionó teniendo en cuenta los conocimientos aprendidos en la evaluación de casos, parecidos a los realizados en role-play (equipo experimental) o como análisis de caso (equipo control). Esta valoración permitió comparar las calificaciones entre los equipos, para evaluar la actividad del role-play en la formación de los estudiantes.

Análisis cualitativo

Con la finalidad de evaluar la apreciación de los estudiantes involucrados en la estrategia de role-play; al equipo experimental se le sometió a un sondeo de satisfacción, el cual fue elaborado mediante el método Delphi^[31]. El grupo de especialistas estuvo conformado por ocho docentes de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega y se tuvo en cuenta:

1. Nivel de satisfacción de los estudiantes en relación a la temática que fueron calificados. Con la finalidad de establecer el porcentaje de satisfacción, se utilizó un rango tipo Likert de 5 puntos^[32]: 1 como totalmente insatisfecho hasta 5 como totalmente satisfecho.
2. Nivel de acuerdo en función a la temática como fueron calificados. Con la finalidad de establecer el porcentaje de acuerdo, se utilizó un rango tipo Likert de 5 puntos: 1 como totalmente insatisfecho hasta 5 como totalmente satisfecho.
3. La perspectiva individual del estudiante en relación con la estrategia desarrollada, se evaluó de forma binaria con respuesta de sí y no.

Análisis cuantitativo

La información recolectada fue analizada cuantitativamente mediante un análisis multivariante de la varianza de una vía (one-way MANOVA), manejando el software estadístico IBM SPSS Statistic for Windows versión 21. Los supuestos para ejecutar el análisis fueron constatados antes de iniciar el estudio.

Consideraciones éticas

Los estudiantes participaron en el estudio previa autorización con consentimiento informado. Los cuestionarios fueron respondidos de manera anónima y facultativa por los 35 estudiantes del equipo experimental.

Resultados

Resultados cuantitativos

En la tabla 2 se presenta la distribución de la media de las calificaciones por cada equipo y su error estándar, mostrados en pares ordenados, por equipos y por tipo de prueba. La media de las calificaciones por cada equipo fue desarrollada como una magnitud de la productividad de los estudiantes.

Tabla 2. Distribución de la media de las notas por cada equipo con error estándar por equipos, por tipo de calificación y con contraste multivariado

	Ec ₁₌₃₅	Ec ₂₌₃₅	Ee ₃₌₃₅	Contraste multivariado por equipos (lambda de wilks)					
				λ	F	df	Error	p*	n ²
Prueba grupal	13.57 +/- 0.18	14.29 +/- 0.15	17.00 +/- 0.13	0,243	52,00	4,00	202,00	0,000	0.507
Prueba final	13.91 +/- 0.35	13.71 +/- 0.33	16.51 +/- 0.30						
Ec ₁ : equipo control 1; Ec ₂ : equipo control 2; Ee ₃ : equipo experimental. * Se reporta que la Traza de Pillai, Hotelling y Raíz mayor de Roy también fueron significativos. (p < 0.05)									

En la tabla 2, el equipo experimental demostró una mayor productividad académica tanto en la prueba grupal y en la prueba final. Asimismo, con la finalidad de cotejar estadísticamente diferencias en relación a la productividad académica entre los equipos involucrados y no involucrados en la estrategia de role-play, se efectuó un estudio multivariante de la varianza de una vía.

Las pruebas estadísticas de contrastes multivariados demuestran para cada equipo una diferencia estadísticamente significativa en la productividad académica de los estudiantes, centrada en el tipo de prueba, F=52,000, p<0.0001, λ Wilks=0,243, parcial η^2 =0,507. Para evaluar como las calificaciones de la prueba grupal y prueba final discrepan en los equipos, el test de efectos intersujetos del estudio MANOVA one-way informó que la prueba grupal y prueba final presentaron un efecto significativo en ambos equipos control y experimental; para la prueba grupal F=136,283, p<0.0001, parcial η^2 =0,728 y para la prueba final F=22,414, p<0.0001, parcial η^2 =0,305.

Por último, un análisis post hoc (DHS de Tukey) evidenció para la prueba grupal diferencia significativa entre las calificaciones de los tres equipos Ec₁ y Ee₃ (p=0,000), Ec₂ y Ee₃ (p=0,000), Ec₁ y Ec₂ (p=0,004); para la prueba final se denotó diferencia significativa entre Ec₂ y Ee₃ (p=0,000), y Ec₁ y Ee₃ (p=0,000). Asimismo, se denotó que no hay diferencia significativa entre Ec₁ y Ec₂ (p=0.904), siendo estos los controles.

Resultados cualitativos

Para conseguir los datos de la satisfacción de los estudiantes respecto a la aplicación del role-play, se evaluó mediante un cuestionario.

Tabla 3. Dimensiones evaluadas en la magnitud del nivel de satisfacción

Satisfacción en relación a:	Escala ^a				
	1	2	3	4	5
La metodología empleada	-	-	-	9%	91%
La función del docente	-	-	-	3%	97%
La función del estudiante en la actividad	-	-	-	26%	74%
La dinámica en equipo	-	-	3%	6%	91%
La evaluación	-	-	-	20%	80%
El tiempo asignado a la actividad	-	-	-	9%	91%
Criterios de valoración: 1=Totalmente insatisfecho; 2=Insatisfecho; 3=Ni satisfecho ni insatisfecho; 4=Satisfecho; 5=Totalmente satisfecho					
^a Porcentaje de estudiantes que eligieron cada criterio de valoración					

Los datos obtenidos de la tabla 3 indica que los estudiantes se declaran completamente satisfechos por la metodología empleada, el rol del docente, la dinámica en equipo y el tiempo asignado a la actividad.

Tabla 4. Dimensiones evaluadas en la magnitud nivel de acuerdo

Aspectos que fueron evaluados:	Escala ^a				
	1	2	3	4	5
La técnica de enseñanza tuvo relación con el problema planteado	-	-	-	6%	94%
Las pautas de trabajo desarrolladas facilitan abordar las dificultades planteadas de una mejor forma	-	-	-	14%	86%
Las dificultades a solucionar se relacionan con el desarrollo de mi profesión	-	-	-	9%	91%
El instrumento de calificación está vinculado con la técnica de enseñanza desarrollada	-	-	-	17%	83%
El trabajo en equipo facilitó el aprendizaje y el progreso de la dificultad planteada	-	-	3%	6%	91%
Criterios de valoración: 1 = Totalmente desacuerdo; 2 = En desacuerdo; 3 = Ni de acuerdo ni en desacuerdo; 4 = De acuerdo; 5= Totalmente de acuerdo					
^a Porcentaje de estudiantes que eligieron cada criterio de valoración					

Los datos en la tabla 4 indica un alto índice de totalmente de acuerdo en relación con la técnica de enseñanza que fue acorde con el problema planteado, las dificultades a solucionar se relacionan con el desarrollo de su profesión y el trabajo en equipo facilitó su aprendizaje.

Se aprecia en la tabla 5 un alto índice en la respuesta afirmativa del estudiante que considera que el role-play lo incentivó a estudiar, lo apoyó a trabajar en equipo, facilitó su capacidad de análisis e incentivó su competencia para solucionar problemas. Asimismo, un alto porcentaje indica que la estrategia no afecta el aprendizaje en otras asignaturas.

Tabla 5. Aspectos evaluados según la perspectiva del estudiante

La estrategia de enseñanza: role-play	Si ^a	No ^a
¿te incentivó a estudiar?	97%	3%
¿te apoyó a trabajar en equipo?	97%	3%
¿facilitó tu capacidad de análisis crítico?	100%	-
¿incentivó tu competencia para solucionar problemas?	100%	-
¿incentivó tu instrucción?	94%	6%
¿afectó tu instrucción con otras asignaturas?	3%	97%
¿te tomó más tiempo que otras actividades de otros cursos?	6%	94%

La estrategia de enseñanza: role-play	Si ^a	No ^a
¿te apoyó a tener mayor rendimiento académico?	94%	6%
¿te gustaría manejar esta actividad en toda la asignatura?	97%	3%
Criterios de valoración: contesta de forma afirmativa (sí) o de forma negativa (no) en relación a los enunciados		
^a Porcentaje de estudiantes que eligieron cada criterio de valoración		

Discusión

La pandemia por COVID-19 ha originado una clausura de los eventos presenciales en las instituciones académicas con la finalidad de prevenir la diseminación del virus⁽²⁰⁾. En tal sentido, las universidades han realizado una serie de estrategias para migrar a una forma de educación a distancia en línea, a través del uso de plataformas virtuales^(20,29).

En los resultados cuantitativos se puede apreciar una mayor productividad académica del equipo experimental tanto en la prueba grupal como en la prueba final, encontrándose diferencias estadísticas significativas en los equipos control y experimental. Esta información se podría correlacionar con el alto nivel de apreciación de los estudiantes por la estrategia desarrollada y su motivación para solucionar problemas. En este aspecto, el role-play desarrollado en plataformas virtuales podría considerarse como una importante estrategia que facilitaría al estudiante afrontar eventos similares en su vida profesional.

En la presente investigación, la ejecución de role-play tuvo un gran índice de aceptación y satisfacción por parte de los estudiantes en su proceso de enseñanza-aprendizaje. Los estudiantes en sus diferentes roles que representaron fueron precisos y críticos.

Los resultados corroboran los estudios reportados por diversos autores^(8,24), donde el manejo de role-play es una opción de enseñanza que promueve el feed-back de los saberes previos con los conocimientos adquiridos, mejora la comunicación de los estudiantes y sus reacciones positivas en el entorno de casos de la vida real. Asimismo, en un sondeo de opinión a los estudiantes manifestaron la virtud de la metodología desarrollada en relación a magnitudes cognitivas, actitudinales y procedimentales⁽²⁵⁾.

En tal sentido los resultados cualitativos expresan que los estudiantes aprovecharon de mejor forma los conocimientos adquiridos y optimizaron la actividad comunicativa (véanse las tablas 3-5). Una magnitud valiosa a marcar fue la responsabilidad de los estudiantes en relación a los casos clínicos del role-play, no solo por la dramatización, sino también por su esfuerzo del producto final presentado. Resultados similares fueron presentados por Lavanya et. al.⁽⁹⁾, Nair⁽¹²⁾ y Suárez et. al.⁽²⁶⁾, quienes indicaron que la técnica de role-play consolida el progreso de habilidades genéricas como la comunicación, cooperación y aumento de la motivación; asimismo, las habilidades de comunicación mostraron una mejora estadísticamente significativa^(9,12,26).

Ormazábal et. al.⁽²⁴⁾, considera utilizar el role-play por un periodo mayor debido a que no detectaron diferencias estadísticamente significativas en la prueba global. En la presente investigación y trabajando con criterios similares, se encontró diferencias estadísticamente significativas en la prueba grupal y prueba final. Por otro lado, estos resultados se podrían atribuir al uso de la plataforma en línea debido a la pandemia de COVID-19.

Los estudiantes de Farmacia no solo deben estar preparados en conocimientos, sino también entrenados con capacidades para afrontar situaciones reales donde las relaciones interpersonales y la comunicación son imprescindibles.

Conclusiones

El uso de role-play demostró ser una herramienta importante para la enseñanza de atención farmacéutica en plataformas virtuales durante la pandemia de COVID-19 favoreciendo el feed-back de los

conocimientos y facilita la valoración de la respuesta de los estudiantes y sus reacciones en el entorno de eventos de acuerdo con la realidad social.

Agradecimientos

A la Universidad Inca Garcilaso de la Vega.

Bibliografía

1. Reglamento de Establecimientos Farmacéuticos. Decreto Supremo N° 014-2011-SA. Normas Legales, El Peruano (27 de julio del 2011). Disponible en: http://www.digemid.minsa.gob.pe/Establecimiento/Documentos/DS_014-2011.pdf
2. Climente MM, Jiménez NT. Manual para la Atención Farmacéutica. 3ª ed. Valencia: AFAHPE - Hospital Universitario Dr. Peset; 2005.
3. Protocolo para efectuar la Atención Farmacéutica en pacientes con sospecha de coronavirus “COVID-19” [Internet]. Lima: Colegio Químico Farmacéutico del Perú; c2020 – [consultado el 17 de marzo de 2021]. Disponible en: <http://www.cqfp.pe/wp-content/uploads/2020/03/Protocolo-para-efectuar-la-atenci%C3%B3n-farmac%C3%A9utica-en-pacientes-con-sospecha-de-coronavirus-.pdf>
4. Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos. Información para Farmacéuticos – Coronavirus COVID-19. [Internet]. Madrid: Portalfarma; c2020 [consultado el 17 de marzo de 2021]. Disponible en: <https://www.portalfarma.com/Profesionales/campanaspf/Asesoramiento-salud-publica/infeccion-coronavirus-2019-nCoV/Paginas/informacion-farmaceuticos.aspx>
5. Faus MD, Amariles MP, Martínez MF. Atención Farmacéutica: conceptos, procesos y casos prácticos. 1ª ed. Madrid: Ergón; 2008.
6. Hadley W, Houck C, Brown LK, Spitalnick JS, Ferrer M, Barker D. Moving Beyond Role-Play: Evaluating the Use of Virtual Reality to Teach Emotion Regulation for the Prevention of Adolescent Risk Behavior Within a Randomized Pilot Trial. *J Pediatr Psychol*. 2019 May 1; 44(4): 425-435. DOI: 10.1093/jpepsy/jjy092.
7. Latif R, Mumtaz S, Mumtaz R, Hussain A. A comparison of debate and role play in enhancing critical thinking and communication skills of medical students during problem based learning. *Biochem Mol Biol Educ*. 2018 Jul; 46(4): 336-342. DOI: 10.1002/bmb.21124.
8. Dawood E. Nursing Students’ Perspective about Role – Play as a Teaching Strategy in Psychiatric Nursing. *JEP*. 2013; 4(4): 38-48.
9. Lavanya SH, Kalpana L, Veena RM, Bharath VD. Role-play as an educational tool in medication communication skills: Students’ perspectives. *Indian J Pharmacol*. 2016 Oct; 48(1): S33-S36. DOI: 10.4103/0253-7613.193311.
10. Tobón ST, Jaik AD. Experiencias de aplicación de las competencias en la educación y el mundo organizacional. 1ª ed. Durango: Red Durango de Investigadores Educativos A.C.; 2012.
11. Serrano JG, Pons RP. El constructivismo hoy: enfoques constructivistas en educación. *REDIE*. 2011 5 de abril; 13(1): 1-27.
12. Nair BT. Role play - An effective tool to teach communication skills in pediatrics to medical undergraduates. *J Educ. Health Promot*. 2019 Jan 29; 8(18): 1-10. DOI: 10.4103/jehp.jehp_162_18.
13. Manzoor I, Mukhtar F, Rahat NH. Medical Students’ Perspective about Role-Plays as A Teaching Strategy in Community Medicine. *J Coll Physicians Surg Pak*. 2012 Apr; 22(4): 222-225.
14. Singh K, Bhattacharyya M, Veerwal V, Singh A. Using Role-plays as an Empathy Education Tool for Ophthalmology Postgraduate. *Int J Appl Basic Med Res*. 2017 Dec; 7(1): S62–S66. DOI: 10.4103/ijabmr.IJABMR_145_17.

15. Larti N, Ashouri E, Aarabi A. The effect of an empathy role-play program for operating room nursing students. *J Educ Health Prof.* 2018 Dec 13; 15(29). DOI: 10.3352/jeehp.2018.15.29.
16. Zelaieta EA, Camino IO, Zulaika LI, Echeazarra IE. Juego de rol para el desarrollo del pensamiento crítico en la formación inicial del profesorado. *RCED.* 2019; 30(3): 729-745. DOI: 10.5209/rced.58884.
17. Gaete RQ. El juego de roles como estrategia de evaluación de aprendizajes universitarios. *Educ Educ.* 2011 mayo-agosto; 14(2): 289-307.
18. Herrera J. Los juegos: una alternativa creativa en la enseñanza de la Traumatología. *Rev Educ Cienc Salud* 2012; 9(1): 36-42.
19. Chan Z. Role-playing in the problema-based learning class. *YNEPR.* 2012 Jan; 12(1): 21-27. DOI: 10.1016/j.nepr.2011.04.008.
20. Comisión Económica para América Latina y el Caribe/Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura. La educación en tiempos de la pandemia de COVID-19 [internet]. Santiago: CEPAL/UNESCO; Informe COVID-19 CEPAL - UNESCO. Disponible en: https://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/45904/S2000510_es.pdf?sequence=1&isAllowed=y
21. Murillo F, Duk C. El Covid-19 y las Brechas Educativas. *Rev Latinoam Educ Inclusiva.* 2020 junio; 14(1): 11-13. DOI: 10.4067/S0718-73782020000100011
22. Negrin Y, Cárdenas L. Una mirada sobre la educación a distancia como opción en tiempos de pandemia. *Edumecentro* 2020; 12(3): 291-295.
23. Plataforma Digital Única del Estado Peruano. Coronavirus (COVID-19) en el Perú [Internet]. Lima: PDUEP; c2020. Disponible en: <https://www.gob.pe/coronavirus>.
24. Suárez XC, Castro NM, Muñoz CV. Use of Role Playing With Video Recording to Develop Interviewing Skills in Students of Psychology. *Educare* 2020; 24(2), 20-37. DOI: 10.15359/ree.24-2.2.
25. Ormazábal VV, Almuna FS, Hernández LM, Zúñiga FA. Juego de roles como método de enseñanza de Farmacología para estudiantes de la carrera de enfermería. *Educ Med.* 2019 Julio - Agosto; 20(4): 206 – 212. DOI: 10.1016/j.edumed.2018.07.001.
26. Dosso R. El juego de roles: Una opción didáctica eficaz para la formación en política y planificación turística. *Aportes y Transferencias.* 2009; 13(2): 11-28.
27. Al-Khalifa K, Nazir M. Evaluation of dental students' responses to roleplay videos in a professionalism course. *J Taibah Univ Med Sci.* 2020 Dec; 15(6): 471–478. DOI: 10.1016/j.jtumed.2020.10.001.
28. Park KM, Ku J, Choi SH, Jang HJ, Park JY, Kim SI, et al. A virtual reality application in role-plays of social skills training for schizophrenia: a randomized, controlled trial. *Psychiatry Res.* 2011 Sep 30; 189(2): 166-172. DOI: 10.1016/j.psychres.2011.04.003
29. Ruiz GC. Covid-19: pensar la educación en un escenario inédito. *RMIE.* 2020 Junio; 25(85): 229-237.
30. Shankar PR, Piryani RM, Singh KK, Karki BM. Student feedback about the use of role-plays in Spars-hanam, a medical humanities module. *F1000Res.* 2012 Dec 13; 1(65). DOI: 10.12688/f1000research.1-65.v1
31. Reguant MA, Torrado MF. El método Delphi. *REIRE.* 2016 Enero 07; 9(1): 87-102. DOI: 10.1344/reire2016.9.1916.
32. García RE, Arévalo CJ, Alcaraz GJ, Gallegos M, Alonso K, Ricardez CH. et al. Satisfacción de estudiantes en medicina con desempeño docente y tutorías académicas. *Inv Educ Med.* 2019; 8(30): 60-67. DOI: 10.22201/facmed.20075057e.2019.30.1891

doi: 10.30827/ars.v62i3.17944

Artículos originales

Development and Optimization of Proniosomal Gel Containing Etodolac: In-vitro, Ex-vivo and In-vivo Evaluation

Desarrollo y optimización del gel proniosomal que contiene etodolaco: evaluación in vitro, ex vivo e in vivo

Moreshwar Patil¹  0000-0002-8060-1687

Prashant Pandit²  0000-0003-1458-9381

Pavan Udavant³  0000-0001-6870-7852

Sandeep Sonawane⁴  0000-0002-4858-7651

Deepak Bhambere⁵  0000-0002-7880-9606

^{1,2,5}Savitribai Phule Pune University, Pune, Department of Pharmaceutics, MET's Institute of Pharmacy, Nashik 422 003, India.

³Savitribai Phule Pune University. Department of Pharmacology, MET's Institute of Pharmacy, Nashik 422 003, Pune, India.

⁴Savitribai Phule Pune University Department of Pharmaceutical analysis, MET's Institute of Pharmacy, Nashik 422 003, Pune, India.

Correspondence

Patil Moreshwar P.
moreshwarppatil@gmail.com

Received: 11.01.2021

Accepted: 25.04.2021

Published: 21.06.2021

Funding

This work has not been financially funded by any funding agency

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Resumen

Introducción: Etodolac se usa en el tratamiento del dolor agudo y la inflamación. Tiene baja solubilidad debido a la alta hidrofobia y se informa que tras la administración oral muestra alteraciones gástricas. Esto fomenta el desarrollo de formulación tópica en lugar de oral.

Método: En este trabajo utilizamos el método de separación de fase de coacervación para el desarrollo del sistema vesicular cargado con etodolaco mediante el uso de tensioactivos no iónicos, colesterol y lecitina de soja. El diseño central compuesto (rotativo) se utilizó para optimizar las concentraciones de lecitina de soja, surfactante y colesterol. Las formulaciones preparadas se caracterizaron por análisis de tamaño de vesículas, potencial zeta, eficiencia de atrapamiento, permeación *in vitro*, permeación *ex vivo* y estudio antiinflamatorio.

Resultados: Etodolac quedó atrapado con éxito en todas las formulaciones que tenían una eficiencia en el intervalo de 74,36% a 90,85%, siendo mayor a 4 ° C que a temperatura ambiente. Cuando se hidrata con agua, los niosomas se producen espontáneamente el rango de 54 a 141 (por mm cúbico). Los resultados del estudio de difusión *in vitro* revelaron que el etodolaco se liberó en un rango de 71,86 a 97,16% durante un período de 24 horas. El tamaño medio de vesícula de la formulación optimizada se encontró en 211,9 nm con un PDI de 0,5. Las respuestas observadas, es decir, % de eficacia de encapsulación y liberación de fármaco, fueron 74,12 y 95,08 respectivamente. El potencial zeta fue de -19,4 mV y reveló la estabilidad de la formulación, que fue confirmada adicionalmente por la ausencia de cambios en el contenido del fármaco y la liberación del fármaco después de los estudios de estabilidad. El % de inhibición en el volumen de la pata fue del 40,52% y del 43,61% para la prueba y el gel proniosómico comercializado.

Conclusión: la formulación de gel proniosomal fue estable y podría mejorar el suministro de etodolaco a la piel debido a la excelente capacidad de permeación del sistema vesicular.

Palabras clave: administración de fármacos vesiculares; gel proniosómico; etodolaco; tensioactivos no iónicos; estudio antiinflamatorio.

Abstract

Introduction: Etodolac is used in the treatment of acute pain and inflammation. It has low solubility because of high hydrophobicity and it is reported that upon oral administration shows gastric disturbances. This encourages the development of topical vesicular formulation.

Method: In this work we used coacervation-phase separation method for the development of etodolac loaded vesicular system by using non-ionic surfactants, cholesterol and soya lecithin. Central composite design (rotatable) was used to optimize the concentrations of soy lecithin, surfactant and cholesterol. The prepared formulations were characterized by number of vesicles formed, vesicle size, zeta potential, entrapment efficiency, *in-vitro* permeation, *ex-vivo* permeation and anti-inflammatory study.

Results: Etodolac was successfully entrapped in all formulations having efficiency in the range of 74.36% to 90.85%, which was more at 4 °C than room temperature. When hydrated with water; niosome in the range of 54 to 141 (per cubic mm) were spontaneously produced. The results of *in-vitro* diffusion study revealed that etodolac was released in the range of 71.86 to 97.16% over a period of 24 hrs. The average vesicle size of optimized formulation was found 211.9 nm with PDI of 0.5. The observed responses i.e. % encapsulation efficiency and drug release were 74.12 and 95.08 respectively. The zeta potential was -19.4mV revealed the stability of formulation which was further confirmed by no changes in drug content and drug release after stability studies. The % inhibition in paw volume was 40.52% and 43.61% for test and marketed proniosomal gel.

Conclusion: Proniosomal gel formulation was stable and could enhance skin delivery of etodolac because of excellent permeation capability of vesicular system.

Keywords: Vesicular drug delivery; proniosomal gel; etodolac; non-ionic surfactants; anti-inflammatory study.

Highlights

- Topically applied drugs can be delivered as proniosomal vesicular system.
- Vesicular system can be used to increase the penetrability of the drug.
- Span, soy lecithin and cholesterol can be used to develop stable formulation.
- Statistical technique like central composite design would be helpful in formulation optimization.

Introduction

Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are frequently prescribed for arthritis, low back pain and some joint diseases⁽¹⁾. The well reported mechanism of action is reversible inhibition of cyclooxygenase enzyme (COX) and decrease the synthesis of prostaglandins. However, due to inhibition of prostaglandins (PGs) which protects the gastric mucosa, they show side effects including dyspepsia to peptic ulcer and gastrointestinal haemorrhage. NSAIDs are acidic in nature they may produce local irritation and lesions on the gastrointestinal mucosa. Hence, some of the NSAIDs are administered percutaneously and transdermally to achieve local or systemic effect as an alternative to oral and parenteral administration⁽²⁾. However, the barrier layer i.e. stratum corneum prevents the penetration of the drugs to lower layers of the skin and/or to enter systemic circulation. In this context, the formulation plays a key role in the penetration and absorption of the active ingredient.

Etodolac is BCS Class II drug. It is a selective COX-2 inhibitor with 10-fold COX-2 selectivity over COX-1; therefore, it can be prescribed safely for the treatment of acute pain and inflammation. It has poor water solubility (75 µg/ml) because of high hydrophobicity⁽³⁾. It causes gastric irritation, constipation, diarrhoea, vomiting, headache dizziness, sore throat and blurred vision⁽⁴⁾ and may create limitation in formulation of oral dosage forms. By considering the drawbacks of oral delivery of etodolac; it would be beneficial to give it through topical route using novel vesicular drug delivery system. It was reflected from the literature that niosomes; a vesicular system could be beneficial for topical and transdermal delivery because they act as a reservoir of drug for a prolonged period of time and enhance skin penetration^(5,6) and thus increases bioavailability. However the niosomes are also has instability issues like fusion, aggregation, sedimentation and leakage of entrapped drug. These mentioned problems can be avoided by using non ionic surfactant formulation which is anhydrous, free flowing i.e. proniosomes and can form vesicles after hydration (niosomes). Proniosomes can entrap both hydrophilic and lipophilic drugs. Proniosomal gel is beneficial to reduce drugs associated side effects, increase effectiveness and make the formulation physically stable. In this context we had considered development of vesicular topical formulation with optimal quality in short period of time with less number of experimental trials using varying proportion of soy lecithin, cholesterol and non-ionic surfactant⁽⁷⁾. Hence, two level three factor rotatable central composite design (CCD) was used study the effect of amount of soy lecithin, non ionic surfactant and cholesterol on entrapment efficiency (%EE) and % drug release.

Materials and Methods

Materials

Etodolac was received as a gift sample from Swiss Garnier Life Sciences, Una, Himachal Pradesh, India. Lipoid S 100 and Phospholipon 80H were obtained from Ludwings Shafen, Germany. Span (20, 40 and 60) was purchased from S. D. Fine Chem. Ltd., Mumbai, India. Cholesterol was obtained from Thomas Baker Ltd., Mumbai, India. All other chemicals used in this study were of analytical grade.

Methods

Preformulation study

To eliminate the possibility of interaction between etodolac and cholesterol, lecithin and Span, compatibility study was carried out by storing the physical mixture (1:1) in the stability chamber at 40 °C/75% RH for 1 month. At the end of the study, FT-IR spectrums of etodolac alone and binary mixture were recorded and studied.

Prior incorporation of etodolac, trial formulation batches containing varying proportions of Span (20, 40 and 60): lecithin (Lipoid S 75, Phospholipon 80 H, Lipoid S 100) in ratio of 0.5:1, 1:1, 1:0.5 and 1:0.75 were developed. These preparations were observed for homogeneity, consistency, clogging and sudden change in viscosity.

Development of proniosomal gel

Etodolac proniosomes were prepared by modified coacervation phase separation method reported by Thakur et. al⁽⁸⁾. Briefly, etodolac (5% w/w) and varying concentrations of Span 60, Lipoid S 100 and cholesterol were mixed with 2.5 ml of absolute ethanol in a wide mouth glass tube. The ingredients were mixed together; open end of the glass tube was covered and warmed on a water bath at 60-70 °C for about 5 min. Phosphate buffer saline (pH 7.4) was added and warmed on a water bath for ≈2 minutes to form dispersion. The mixture was allowed to cool to room temperature until the dispersion was converted to proniosomes having semisolid consistency and stored in dark until further use.

Optimization by design of experiment

A full central composite design (rotatable) was used in this study. Design matrix is given in Table 1. The amount of Span 60 (A), Lipoid S 100 (B) and cholesterol (C) were taken as independent variables, while % entrapment efficiency (Y1) and % drug release (Y2) were taken as dependent variables. The factors were studied at 2 levels (-1, +1) indicating low and high respectively. The design consisted of three groups of design points, including two level three factor factorial design points, axial or star points and center points. Total 20 experiments consisting of 8 factorial points, 6 axial points, and 6 replicated central points were performed according to the central composite design matrix generated by Design Expert V. 11 Software (Table 2) (Stat-Ease, Minneapolis, USA).

Table 1: Two level three factor central composite design

Factor	Low level	High level	- α	+ α
Experimental domain (Coded values)				
Span 60 (mg)	-1	+1	-1.682	+1.682
Lipoid S 100 (mg)	-1	+1	-1.682	+1.682
Cholesterol (mg)	-1	+1	-1.682	+1.682
Experimental domain (Actual values)				
Span 60 (mg)	1200	1800	995.46	2004.5
Lipoid S 100 (mg)	500	1000	329.55	1170
Cholesterol (mg)	50	100	32.96	117.04

Table 2: Experimental design batches of proniosomes

Experiment	Span 60(mg)	Lipoid S 100 (mg)	Cholesterol (mg)	Ethanol(ml)	Saline sol. (ml)
Factorial designs					
CD 1	1200	500	50	2.5	1.8
CD 2	1800	500	50	2.5	1.8
CD 3	1200	1000	50	2.5	1.8
CD 4	1800	1000	50	2.5	1.8
CD 5	1200	500	100	2.5	1.8
CD 6	1800	500	100	2.5	1.8
CD 7	1200	1000	100	2.5	1.8
CD 8	1800	1000	100	2.5	1.8
Star design					
CD 9	995.46	750	75	2.5	1.8
CD 10	2004.5	750	75	2.5	1.8
CD 11	1500	329.55	75	2.5	1.8
CD 12	1500	1170.45	75	2.5	1.8
CD 13	1500	750	32.96	2.5	1.8
CD 14	1500	750	117.04	2.5	1.8
Center points					
CD 15	1500	750	75	2.5	1.8
CD 16	1500	750	75	2.5	1.8
CD 17	1500	750	75	2.5	1.8
CD 18	1500	750	75	2.5	1.8
CD 19	1500	750	75	2.5	1.8
CD 20	1500	750	75	2.5	1.8

Evaluation of proniosomal gel

Determination of pH and viscosity

The pH of all formulations was determined by using pH meter at ambient temperature. The pH meter was calibrated before each use. About 1g of gel was dissolved in 25ml of distilled water and pH was measured by immersing the electrode. The viscosities of different proniosomal gel formulation were determined at 25°C using a Brookfield viscometer. The formulation (more than 5g) was placed in a beaker and was allowed to equilibrate for 5 min before measuring the dial reading using a spindle no S-64 at 20 rpm^(6,9).

% Encapsulation efficiency (%EE)

Approximately 0.2 g of proniosomal gel was dispersed in 10 ml of phosphate buffer (pH 7.4). The dispersion was sonicated, centrifuged at 18,000 rpm at -20°C for 30 min. (C-24 BL, Remi lab) to separate

unentrapped drug. The supernatant was removed and quantified by an UV spectrophotometer at 278 nm⁽¹⁰⁾. The % encapsulation was calculated by the following equation:

$$\% EE = \frac{(C_t - C_f)}{C_t} \times 100$$

Where,

C_t is the concentration of total etodolac; C_f is the concentration of free etodolac.

Vesicle size and zeta potential

Vesicle size, size distribution and zeta potential were determined by Malvern Zetasizer in order to ascertain the stability as well as the reproducibility of the method. About 1g of gel was dissolved in 20 ml double distilled water and agitated to get homogeneous dispersion. Mean globule diameter and zeta potential was recorded⁽¹¹⁾.

Rate of Spontaneity

This test helps to determine the numbers of niosomes formed spontaneously after hydration in 15-20 min. Approximately 100 or 200 mg of proniosomal gel was transferred to glass bottle and spread uniformly around walls. About 20ml of saline solution was added along the walls and was left aside for 20 min. then a drop was withdrawn and place on Neubauers chamber to count the number of vesicles⁽¹²⁾.

In-vitro and Ex-vivo drug release

In-vitro release study was performed by using diffusion cell apparatus and egg membrane. Egg membrane was separated by putting the egg shell in mixture of water and hydrochloric acid in which the shell is dissolved to calcium chloride with effervescence of carbon dioxide. Before initiation of study; the egg membrane was soaked in phosphate buffer for 24 hours. About 1g of proniosomal gel was placed in the donor compartment tube and spread over the egg membrane which was clamped at the end of the tube. The acceptor compartment consists of phosphate buffer (pH 7.4). The entire surface of the cell was in contact with the medium present in the receptor compartment which was agitated by magnetic stirrer at rpm 600 and temperature $32 \pm 1^\circ\text{C}$. A sample was removed at specific time interval for up to 24 h with same amount replaced to maintain sink condition. The sample was analysed at 278 nm against blank using UV spectrophotometer. For *ex-vivo* study; the egg membrane was replaced by excised skin of abdominal region of rat. The stratum corneum of the skin faced the drug donor compartment whereas dermis faced the receiver compartment⁽¹³⁻¹⁶⁾.

Scanning electron microscopy

The surface morphology of the formulation was determined by placing the drop of niosome dispersion on carbon coated grid, vacuum dried and observed microscopically at an accelerating voltage of 10 Kv using scanning electron microscope (JEOL/JEM 2100, Japan).

Anti-inflammatory study

The study protocol was approved by the Animal Ethical Committee of MET'S Institute of Pharmacy (CPCSEA Reg. no-1344/ac/10/CPCSEA/IAEC) and it was conducted as per the guidelines. Fifteen albino mice were selected. They were divided into 3 groups (control, standard and test) each containing 5 animals and kept fasted overnight. About 0.1ml of 1% (w/v) carrageenan was injected on the left hind paw to induce edema. Control group received carrageenan (1% w/v) only while standard and test were treated with marketed and developed proniosomal gel in addition to carrageenan. The paw thickness was measured using vernier calliper at the time interval of 0, 30, 60, 120 and 180 minute. The % inhibition of diameter paw edema by proniosomal gel and marketed gel treated group compared with carrageenan control group⁽¹⁷⁾. From the mean edema volume, the percentage inhibition of the edema

was calculated between the treated and control groups. Before anti-inflammatory activity skin irritation study was conducted to find out the allergic potential of formulation.

$$\% \text{ inhibition by test} = \frac{V_c - V_t}{V_c} \times 100$$

$$\% \text{ inhibition by standard} = \frac{V_c - V_s}{V_c} \times 100$$

Where,

V_c = Paw volume of control

V_t = Paw volume of test

V_s = Paw volume of standard

Results and Discussion

Preformulation study

The FT-IR spectrums of etodolac, etodolac with Span 60, Lipoid S-100 and cholesterol are shown in Figure 1. The principle peaks of the etodolac i.e. -NH stretching at 3342.64 cm^{-1} , -CH stretching in alkane at 2970.38 cm^{-1} and -CO stretching in ketone at 1745 cm^{-1} , -CO stretching in aromatic at 1261 cm^{-1} were present in all physical mixtures. There was neither deletion of existing peak nor addition of new peak in the spectrum revealed the compatible nature of the excipients with etodolac. Hence; by using these materials stable formulations were developed.

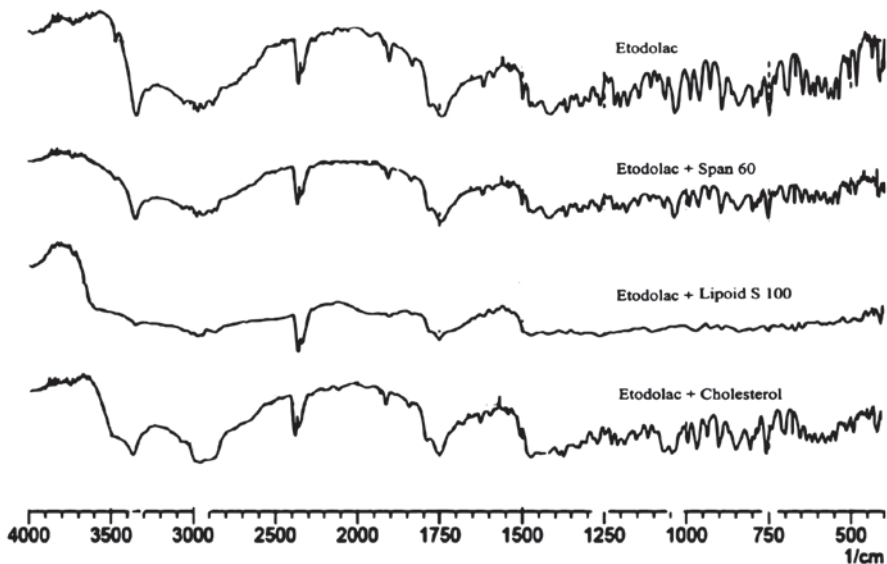


Figure 1. FTIR spectrums for prediction of incompatibility: etodolac and its binary mixture with Span 60, Lipoid S 100 and cholesterol.

Preliminary studies have demonstrated that formulations of Span 20 and 40 with Lipoid S 100 and Phospholipon 80 H were transparent; yellow and semisolid. Gels of Span 40 had shown clogging with change in viscosity after 1 week of storage. In case of Span 20, formulations were stable but less amount of etodolac was incorporated. Hence; it would be beneficial to use Span 60 as it had shown high entrapment efficiency in addition to consistency. Similarly niosome vesicles prepared with Lipoid S 100 were observed good and denser than prepared with Phospholipon 80 H.

Data analysis by central composite design

Effect of composition variable on %EE

Proniosomes are made of lipidic materials and considered as it has ability to entrap drug. The response (Y1) i.e. %EE was ranged from 74.36±0.22 to 90.85±0.26 (Table 3). ANOVA test revealed that the response surface quadratic model was significant. The polynomial equation for encapsulation efficiency is

$$\%EE = +81.42 - 1.58*A - 2.35*B + 1.75*C - 2.19*A*B - 2.30*A*C + 0.96*B*C - 0.88A^2 - 0.13B^2 + 0.90C^2$$

It was observed from the equation and perturbation plot (Figure 2) that the amount of Span 60 and Lipoid S 100 had negative effect on encapsulation while amount of cholesterol had positive effect indicating that increase in concentration of cholesterol encapsulate more amount of drug. It may be due to the fact that cholesterol forms hydrogen bond with non ionic surfactant and impart stability to niosomes and hence, more amount of drug is encapsulated⁽¹⁸⁾. It is reported that Span 60 has HLB value of 4.7 and decreased HLB value is also responsible for decreases encapsulation efficiency than that of surfactant with high HLB⁽¹⁹⁾.

Table 3: Results of responses measured for 20 CCD batches

Experiment	Y1 (% EE) (Mean±SD)	Y2 (% CDR) (Mean±SD)
CD 1	80.85±0.19	74.8±0.94
CD 2	89.31±0.32	84.17±0.65
CD 3	80.18±0.31	71.86±0.43
CD 4	76.89±0.12	95.4±0.64
CD 5	84.75±0.24	90.53±0.84
CD 6	81.03±0.34	90.9±0.89
CD 7	84.94±0.16	85.47±0.51
CD 8	75.46±0.18	96.06±0.14
CD 9	82.42±0.24	85.01±0.72
CD 10	74.36±0.22	97.16±0.69
CD 11	84.59±0.15	90.9±0.5
CD 12	76.48±0.28	95.63±0.94
CD 13	76.01±0.37	82.1±0.63
CD 14	90.85±0.26	80±0.66
CD 15	81.2±0.23	87.3±0.35
CD 16	81.37±0.27	86.76±0.83
CD 17	81.76±0.33	85.3±0.45
CD 18	81.23±0.28	84.15±0.81
CD 19	81.66±0.35	86.13±0.34
CD 20	81.46±0.16	87.46±0.81
Optimized	83.74±0.72	86.62±0.85

Design-Expert® Software

% EE

● % EE

Actual Factors

A: Span 60 = 1500.00

B: Lipoid S 100 = 750.00

C: Cholesterol = 75.00

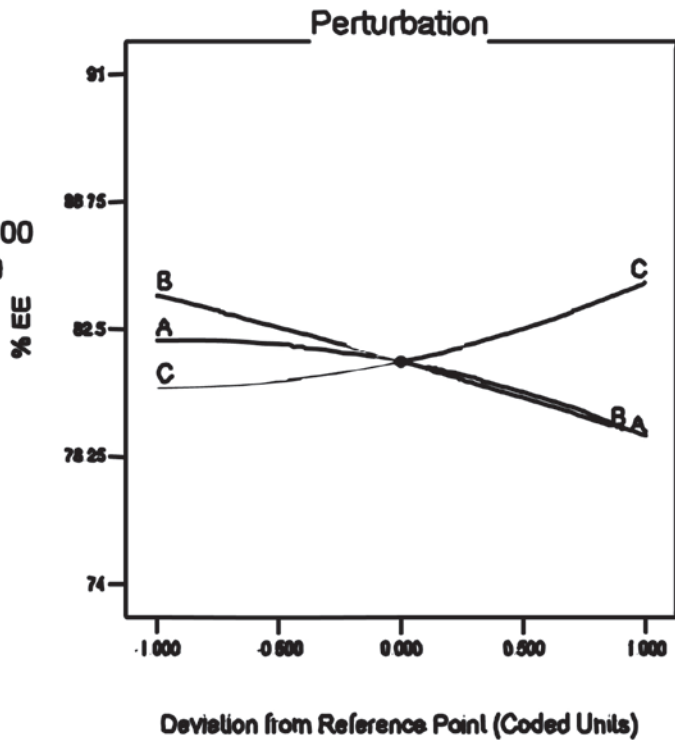


Figure 2. Perturbation plot for % encapsulation efficiency (EE).

Effect of composition variable on % drug release

The percentage cumulative drug release was observed in the range of 71.86±0.43 to 97.16±0.69 (Table 3). Following is the polynomial equation for %CDR:

$$\% \text{ CDR} = +86.26 + 4.71 * A + 1.20 * B + 2.43 * C + 3.05 * A * B - 2.74 * A * C - 1.02 * B * C + 1.21 * A^2 + 1.99 * B^2 - 2.33 * C^2$$

The component of formulation; Span 60, Lipoid S 100 and cholesterol had positive coefficients. The perturbation plot (Figure 3) revealed that curvature of factor A i.e. Span 60 demonstrated significant proportional effect on drug release as compare to Lipoid S 100 and cholesterol. It was observed from the release profile that the vesicular system prolonged the release of etodolac for 24 hrs. The release studies have demonstrated presence of some amount of drug may bind to surface because of that initial burst release of etodolac followed by slow release was observed. The prolonged release for longer period of time could improve patient compliance as it reduces application frequency⁽²⁰⁾.

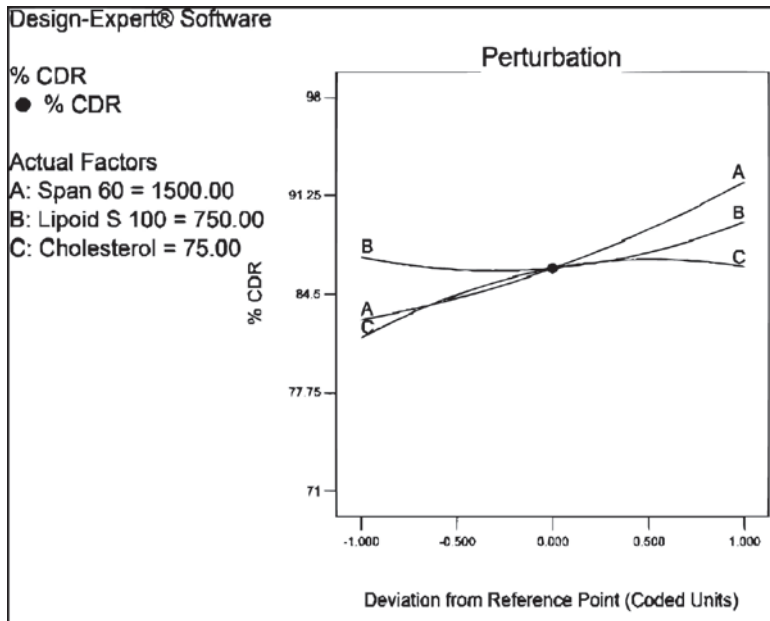


Figure 3. Perturbation plot for % cumulative drug release (CDR).

Statistical evaluation suggested that quadratic model was significant. The release mechanism was studied for all formulation and it was observed that it followed zero order release kinetic. The comparative release profiling of optimized formulation and marketed formulation is given in Figure 4.

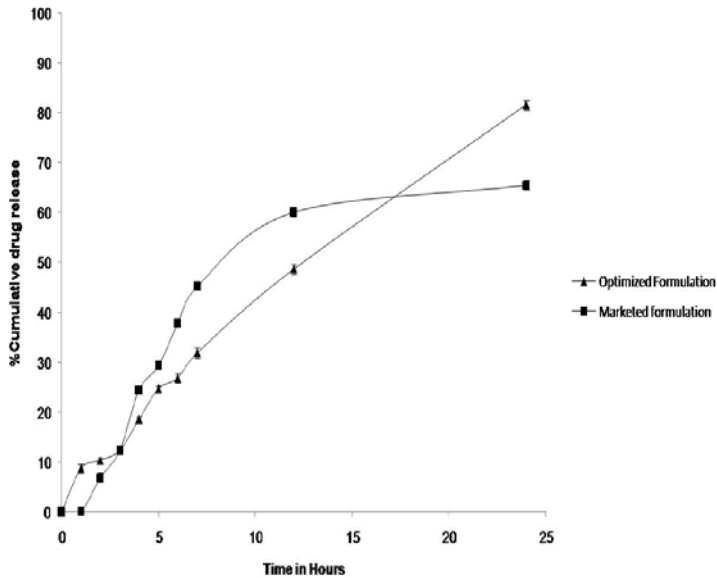


Figure 4. Comparative release profile of optimized (A) and marketed (B) formulation

In order to optimize the formulation desirability approach test was used where the goal for the entrapment efficiency was set to 75% to 80% and maximum for %CDR. From the 20 solutions obtained, the one solution which has desirability equal to 1 was selected and experiment was conducted in triplicate and evaluated for %EE and %CDR. The predicted and observed responses of optimized formulation are shown in Table 4.

Table 4: Predicted and observed responses for optimized formulation

Span 60 (mg)	1800	Response	Predicted	Observed
Lipoid S 100 (mg)	971	EE (%)	75.06	74.12
Cholesterol (mg)	58	CDR (%)	97.22	95.08

Regression analysis of the data is presented in Table 5.

Table 5: Regression analysis of two-level-three-factor central composite design of etodolac loaded proniosomes

Response	Model	R ²	Adjusted R ²	Predicted R ²	Adequate precision	p-value
EE (%)	Quadratic	0.7629	0.5495	-0.8165	6.390	0.0299
CDR (%)	Quadratic	0.8453	0.7061	-0.1186	8.596	0.0047

Evaluation of proniosomal gel

pH and viscosity

This finding is expected since, topical systems are directly applied on the skin; they should not cause skin irritation or disruption of the skin structure. The pH of all formulation batches was in between 4.2 ± 0.20 to 5.9 ± 0.1 and optimized formulation had 5.6 ± 0.05 . Therefore, it was reasonable to expect that formulations were found to be compatible with skin pH. The viscosity was related to amount of Span 60. Batches containing lower batches of Span 60 had low viscosity. The viscosity of optimized formulation was 6686 ± 147.14 cPs which is what one could expect from the gel. All the formulations had shown shear thinning properties.

Zeta potential and vesicle size

The zeta potential demonstrates the potential of the parameter for the stability of the colloidal dispersions like vesicular formulation. Higher is the value of zeta potential; greater is the repulsion because of reduced aggregation between the particles^(18,19). The zeta potential of optimized formulation was -19.4 mV; the negative value was due to negatively charged phospholipids present in soy lecithin. Because of negative charge; the droplets were repelled away from each other; avoid aggregation and impart stability. Another important parameter is size of the vesicle. The average vesicle size of the optimized formulation was found to be 211.9 nm with PDI of 0.58. This revealed that the vesicles had larger size and were relatively homogenous. The larger size of the vesicles containing soy lecithin is due to the difference in the composition of soy and egg derived lecithin⁽²⁰⁾.

The rate of spontaneity i.e. formation of vesicles per 1 cubic mm was ranged from 51.25 ± 0.66 to 141.75 ± 0.62 . The optimized formulation had the rate of 94.75 ± 0.54 .

Ex-vivo drug release

The formulations were studied using rat's excised skin and it was observed that the release of drug was more than that of marketed gel. Release behaviour justified the significance of vesicular systems. It seems that proniosomal formulation can serve as a penetration enhancer by modifying the lipids and increasing the fluidity which leads to weakening of skin's barrier properties⁽²¹⁾. The release profile is shown in Figure 5.

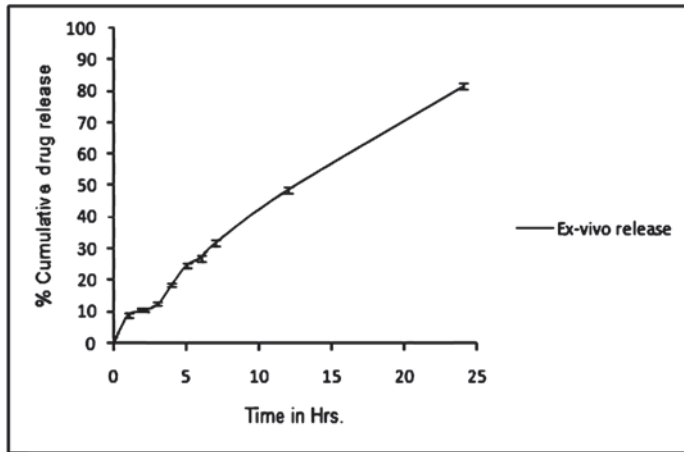


Figure 5. Ex-vivo release profile of optimized formulation

SEM study

The SEM analysis enables the determination of surface morphologies like shape and size of proniosomes than its hydrated form i.e. niosomes. As illustrated in Figure 6; the photomicrographs indicated that the vesicles had size around 200 nm and spherical in shape. The increased size of the vesicle was not related to instability issues but may be due to removal of moisture during SEM analysis from the preparation causing them to aggregate.

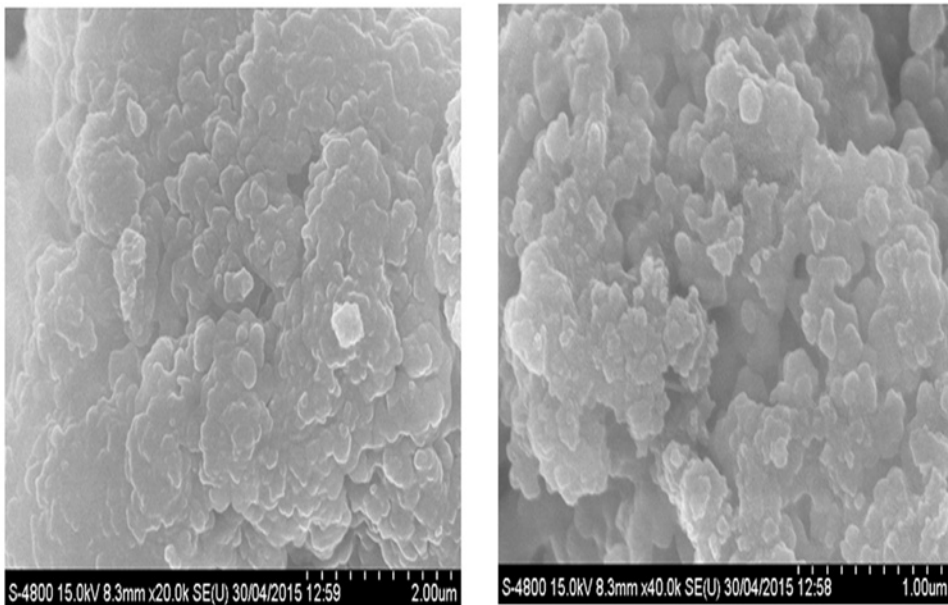


Figure 6. SEM photomicrographs of optimized formulation.

Anti-inflammatory activity

The paw volume of control, standard and test formulation treated animals was measured. The % inhibition of paw volume was compared amongst standard and test groups. It was observed that the % inhibition by marketed gel and proniosomal gel was 43.61 and 40.52 % respectively which indicates that formulated proniosomal gel was as effective as standard gel in its anti-inflammatory activity. The results are presented in Figure 7. The P value is <0.0294 is considered as extremely significant by applying ANOVA test followed by Dunnett test.

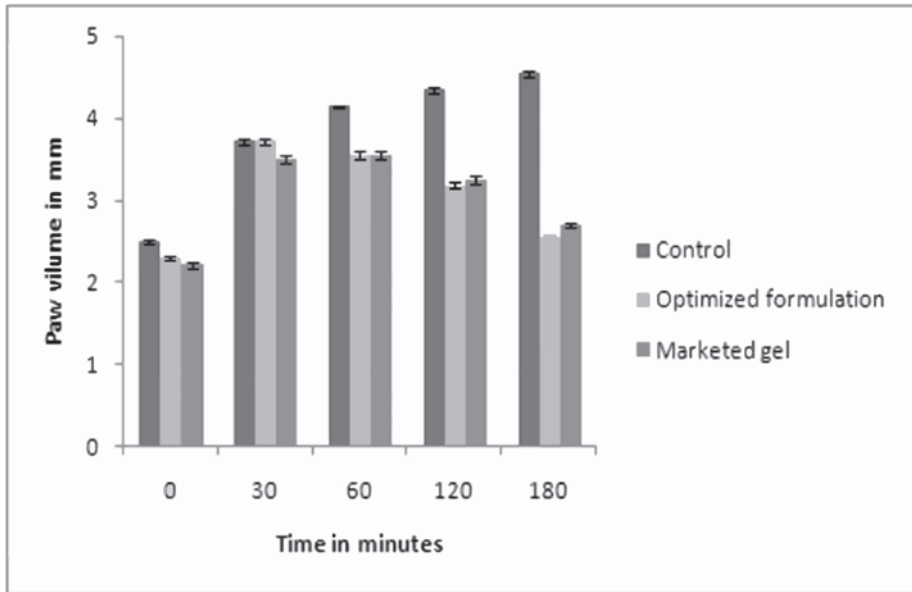


Figure 7. Comparative study of anti-inflammatory activity of optimized and marketed formulation.

Conclusion

The work has demonstrated the use of Span 60, Lipoid S 100 (soy lecithin) and cholesterol appropriate for the development of etodolac proniosomal gel. The proniosomal gel formulation was stable for the period of 3 months. It had proper features for transdermal delivery. The ex vivo study indicated more release than marketed formulation; it could be due to increased penetration ability of the vesicular system. The anti-inflammatory studies showed that the formulation was comparable with marketed one. Thus, the developed topical proniosomal formulation may prove to be a promising carrier for other anti-inflammatory drugs too in the context of simple production and scale up.

Acknowledgment

The authors are thankful to MET's Institute of Pharmacy, Bhujbal Knowledge City, Adgaon, Nashik for providing the necessary research facilities. They are also thankful to Swiss Garnier Life Sciences, Una district, Himachal Pradesh for providing gift sample of Etodolac.

References

1. Heyneman C, Lawless LC, Wall G. Oral versus dermal NSAIDs in rheumatic diseases. *Drugs*. 2000; 60(3):555–574. doi:10.2165/00003495-200060030-00004.
2. Okyar A, Ozsoy Y, Gungor S. Novel formulation approaches for dermal and transdermal delivery of non-steroidal anti-inflammatory drugs. En: Lemmey A, editor. *Rheumatoid arthritis*. Rijeka, Croatia: InTech; 2012. 25-48 p.
3. Naito Y, Matsuda H, Shimomura K, Kurihara K, Tochigi K, Tomono K. Measurement and correlation of solubilities of the poorly water-soluble pharmaceutical compound etodolac by addition of co-solvents. *Fluid Ph Equilibria*. 2013; 357(2):43–49. doi: 10.1016/j.fluid.2013.05.025
4. Tripathi K. *Essential of medical pharmacology*. 7th ed. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers; 192 p.
5. Rehman K, Zulfakar M. Recent advances in gel technologies for topical and transdermal drug delivery. *Drug Dev Ind Pharm*. 2014; 40(4):433–440. doi: 10.3109/03639045.2013.828219.
6. Singla S, Harikumar S, Aggarwal G. Proniosomes for effective topical delivery of clotrimazole: development, characterization and performance evaluation. *Asian J Pharm Sci*. 2012; 7(4):257–262.
7. Solanki A, Parikh J, Parikh R. Preparation, optimization and characterization of ketoprofen proniosomes for transdermal delivery. *Int J Pharm Sci Nanotech*. 2009; 2(1):413–420. doi: 10.37285/ijpsn.2009.2.1.4.
8. Thakur R, Anwer K, Shams M, Ali A, Khar R, Shakeel F, Taha E. Proniosomal transdermal therapeutic system of losartan potassium: development and pharmacokinetic evaluation. *J drug Target*. 2009; 17(6):442–449. doi: 10.1080/10611860902963039.
9. Patil H, Hardikar S, Bhosale A. Formulation development and evaluation of proniosomal gel of carvedilol. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2012; 4(1):191–197.
10. Alsarra I, Bosela A, Ahmed S, Mahrous G. Proniosomes as a drug carrier for transdermal delivery of ketorolac. *Eur J Pharm Biopharm*. 2005; 59(3):485–490. doi: 10.1016/j.ejpb.2004.09.006.
11. Guo Y, Pan H, Chen X, Gu Z. Preparation, in vitro and in vivo evaluation of liposomal/niosomal gel delivery systems for clotrimazole. *Drug Dev Ind Pharm*. 2005; 31(4-5):375–383. doi: 10.1081/ddc-54315.
12. Shamsheer A, Sabareesh M, Patan K, Saikrishna P, Sudheer B. Formulation and evaluation of lisinopril dihydrate transdermal proniosomal gels. *J App Pharm Sci*. 2011; 1(8):181–185.
13. Ueda C, Shah V, Ewing G, Flynn G, Maibach H, Marquis M, Rytting H, Shaw S, Thakker K, Yakobi A. Topical and transdermal drug products. *Pharmacopeial Forum*, 2009; 35(3):750–764.
14. Sudhamani T, Priyadarisini N, Radhakrishnan M. Proniosomes: a promising drug carriers. *Int J Pharm Tech Res*. 2010; 2(2):1446–1454.
15. Shakeel F, Baboota S, Ahuja A, Ali J, Shafiq S. Skin permeation mechanism and bioavailability enhancement of celecoxib from transdermally applied nanoemulsion. *J Nanobiotech*. 2008; 6(8):1-11. doi: 10.1186/1477-3155-6-8.
16. Shakeel F, Baboota S, Ahuja A, Ali J, Shafiq S. Celecoxib nanoemulsion: skin permeation mechanism and bioavailability assessment. *J Drug Target*. 2008; 16(10):733–740. doi: 10.1080/10611860802473402.
17. Khullar R, Kumar D, Seth N, Saini S. Formulation and evaluation of mefenamic acid emulgel for topical delivery. *Saudi Pharm J*. 2012; 20, 63-67. doi: 10.1016/j.jsps.2011.08.001.
18. Agarwal S, Bakshi V, Vitta P, Raghuram A, Pandey S, Udupa N. Effect of cholesterol content and surfactant HLB on vesicle properties of niosomes. *Ind J Pharm Sci*. 2004; 66(1):121–123.
19. Shahiwala A, Misra A. Studies in topical application of niosomally entrapped nimesulide. *J Pharm Pharm Sci*. 2002; 5(3):220–225.

20. Shah H, Nair A, Shah J, Bharadia P, Al-Dhubiab B. Proniosomal gel for transdermal delivery of lornoxicam: optimization using factorial design and in vivo evaluation in rats. *DARU J Pharm Sci.* 2019; 27:59-70. doi: 10.1007/s40199-019-00242-x.

21. El Zaafarany G, Awad G, Holayel S, Mortada N. Role of edge activators and surface charge in developing ultra deformable vesicles with enhanced skin delivery. *Int J Pharm.* 2010; 397(1-2):164-172. doi: 10.1016/j.ijpharm.2010.06.034.

© BY-NC-SA 4.0

doi: 10.30827/ars.v62i3.20756

Originales breves

Evaluación de las concentraciones plasmáticas de voriconazol en práctica clínica

Assessment of plasma voriconazole concentrations in clinical practice

Sonia Ruiz-Boy¹  0000-0001-9956-1745

Carla Bastida¹  0000-0003-0845-8107

Mercè Brunet²  0000-0002-7154-916X

Dolors Soy¹  0000-0001-8128-345X

¹Hospital Clínic de Barcelona, Área del Medicamento, Servicio de Farmacia, Barcelona, España.

² Hospital Clínic de Barcelona, Centro de Diagnóstico Biomédico, Servicio de Bioquímica y Genética Molecular, Barcelona, España.

Correspondencia

Carla Bastida
cbastida@clinic.cat

Received: 04.03.2021

Accepted: 08.04.2021

Published: 21.06.2021

Financiación

Sin financiación.

Conflicto de intereses

Ninguno.

Otras declaraciones

Todos los autores han aprobado el manuscrito final. El manuscrito no se ha enviado ni totalmente ni en partes a otras revistas a la vez que a Ars Pharmaceutica.

Resumen

Introducción: Voriconazol presenta una alta variabilidad interindividual en sus concentraciones plasmáticas (Cp). Los objetivos son: (i) describir sus Cp en una cohorte adulta, (ii) estudiar sus potenciales causas de variabilidad y (iii) relacionarlas con las recomendaciones de monitorización farmacocinética actuales.

Método: Estudio observacional retrospectivo, incluyendo pacientes con ≥ 1 determinación de Cp mínima (C_{\min}) de voriconazol durante 2017.

Resultados: Se analizaron 165 C_{\min} correspondientes a 51 pacientes. La mediana de C_{\min} fue de 2,4 μ g/mL (IQR:1,4-3,6), siendo $<1\mu$ g/mL en 26 casos y $>4\mu$ g/mL en 34. Se observaron C_{\min} significativamente superiores en >65 años ($p=0,006$) y en pacientes con albúmina <27 g/L ($p<0,001$). Siguiendo las recomendaciones de monitorización de las Cp de voriconazol según la guía ESCMID-ECMM-ERS, se detectarían el 91,1% de C_{\min} que resultaron fuera de intervalo.

Conclusiones: Observamos un 36,4% de las C_{\min} de voriconazol fuera del intervalo óptimo. Identificamos la edad y la concentración de albúmina como factores que influyen las Cp.

Palabras clave: antifúngico; aspergilosis; concentraciones plasmáticas; guías de práctica clínica; monitorización farmacocinética; voriconazol

Abstract

Introduction: Voriconazole presents a high interindividual variability in plasma concentrations. We aimed to: (i) describe plasma voriconazole concentrations (PVC) of an adult cohort, (ii) identify potential causes of variability and (iii) relate them with current pharmacokinetic monitoring recommendations.

Method: Observational retrospective study. All patients with at least one determination of PVC during 2017 were included.

Results: A total of 165 trough concentrations (C_{trough}) were analyzed from 51 patients. The median C_{trough} was 2.4 μ g/mL (IQR:1.4-3.6). C_{trough} were $<1\mu$ g/mL in 26 cases and $>4\mu$ g/mL in 34. Significantly higher concentrations were observed in patients older than 65 years ($p=0.006$) and in patients with albumin levels <27 g/L ($p<0.001$). Following PVC's monitoring recommendation from ESCMID-ECMM-ERS's guideline, we would detect the 91.1% of C_{trough} out of the interval.

Conclusions: We observed 36.4% of PVC outside of its optimal range. We identified age and albumin concentration as factors that influence PVC.

Keywords: antifungal; aspergillosis; clinical practice guideline; plasma concentration; therapeutic drug monitoring; voriconazole

Puntos clave

Voriconazol es un antifúngico de amplio espectro de uso frecuente en nuestro entorno. Presenta una gran variabilidad interindividual de sus concentraciones plasmáticas, por lo que es habitual la aplicación de la monitorización farmacocinética para aumentar el éxito terapéutico y minimizar su toxicidad. Este estudio aporta datos de práctica clínica real, incluyendo pacientes con perfiles heterogéneos y tanto ingresados como en régimen ambulatorio. También evalúa si las recomendaciones de distintas guías sobre qué pacientes serían susceptibles de monitorización farmacocinética son apropiadas en la práctica clínica real. Los resultados expuestos podrían ser de utilidad para optimizar el cuidado de todos aquellos pacientes que necesiten tratarse con voriconazol.

Introducción

Voriconazol es un antifúngico triazólico de amplio espectro indicado principalmente para el tratamiento de aspergilosis invasiva⁽¹⁾. Es conocida la alta variabilidad en las concentraciones plasmáticas (Cp) de voriconazol⁽²⁾ y la influencia que tienen diferentes factores en ellas. La edad superior a 65 años, la vía de administración intravenosa y la cirrosis se han asociado a Cp de voriconazol supratrapéuticas, mientras que una edad menor de 47 años, el género femenino y el enolismo, con infratrapéuticas^(2,3). Otro factor que ha demostrado explicar parte de la variabilidad farmacocinética es el polimorfismo genético asociado a la expresión y actividad de su principal enzima metabolizador (CYP2C19)⁽¹⁾. Hay que añadir un alto riesgo de interacciones farmacológicas debido a su extenso metabolismo hepático y su fuerte efecto inhibidor de varios citocromos hepáticos, que junto con la farmacocinética no lineal dificulta su ajuste de dosis^(2,3).

La monitorización farmacocinética (MFC) de las Cp de voriconazol ha demostrado aumentar la probabilidad de éxito terapéutico, minimizando las reacciones adversas relacionadas⁽³⁾. Para ello se emplean las concentraciones mínimas (C_{min}) del fármaco en estado estacionario⁽¹⁾. El intervalo óptimo de C_{min} presenta discrepancias entre guías clínicas, siendo los valores más consensuados: C_{min} <0,5-2µg/mL asociados con fracaso terapéutico y C_{min} >4-6µg/mL con mayor toxicidad. Estos valores también se ven modificados según la indicación o gravedad de la infección⁽⁴⁻⁹⁾.

Actualmente, tampoco existe consenso entre las diferentes guías clínicas sobre si la MFC de Cp de voriconazol debería ser un procedimiento de rutina en todo paciente bajo tratamiento⁽⁴⁻⁶⁾ o si debería indicarse en pacientes seleccionados⁽⁷⁻⁹⁾.

Por ello, el objetivo de este estudio es describir las C_{min} de voriconazol determinadas de forma rutinaria en un hospital universitario de adultos de tercer nivel. Como objetivos secundarios, evaluar la asociación de diferentes variables con los valores de C_{min} y relacionarlas con las recomendaciones de MFC actuales según guías clínicas.

Métodos

Diseño y pacientes

Se realizó un estudio descriptivo observacional y retrospectivo, incluyendo aquellos pacientes que en 2017 se les realizase como mínimo una determinación plasmática de voriconazol. La recogida de datos tuvo lugar entre septiembre de 2018 y julio de 2019. Los datos se obtuvieron de forma anonimizada del programa informático del Hospital. Este estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital y se adhiere a los principios básicos de la Declaración de Helsinki.

Datos demográficos, clínicos y de laboratorio

Se recogieron datos demográficos (sexo, edad, altura y peso), clínicos (consumo de enol, insuficiencia renal, pancreática o hepática, concentración de albúmina sérica) y perfil del paciente (paciente post-trasplantado, con enfermedad oncológica o hematológica, con enfermedad autoinmune, etc.).

Datos sobre voriconazol

Los datos recogidos fueron: indicación farmacoterapéutica, posología, vía de administración, duración del tratamiento y motivo de suspensión; la/s fecha/s de extracción y valores de C_{min} , determinación ambulatoria u hospitalaria y posología del antifúngico después del resultado de C_{min} . Se consideró dentro de margen terapéutico las C_{min} entre 1-4 μ g/mL.

Adicionalmente, se revisaron aquellas interacciones farmacológicas potenciales que pudieran afectar a las concentraciones resultantes de voriconazol, recogiendo datos de medicación concomitante en el día de la extracción. Fueron fuentes de consulta, la ficha técnica de voriconazol y las bases de datos IBM Micromedex® y Medscape®^(1,10,11)

Determinación de la concentración plasmática de voriconazol

Las C_{min} de voriconazol en plasma fueron analizadas mediante un método de cromatografía líquida de alta eficacia adaptado a un detector ultravioleta visible (UPLC/UV) desarrollado y validado siguiendo la guía de la *European Medicines Agency* (EMA)⁽¹²⁾. Este método tiene un límite inferior de cuantificación de 0,05 μ g/mL de voriconazol y es lineal entre 0,05 μ g/mL y 10 μ g/mL. La precisión del método presenta un coeficiente de variación (CV) <6,7% interserie y un CV < 3,5% intraserie.

Análisis estadístico

Los resultados se analizaron mediante estadística descriptiva expresándolos como promedio y desviación estándar (DE) o mediana y rango intercuartílico (IQR). Se realizó el test ANOVA para el análisis de variables continuas. Para las variables categóricas se aplicaron las pruebas no paramétricas de Kruskal Wallis y U de Mann-Whitney para el análisis de 2 y más de 2 variables, respectivamente. Se utilizó SPSS Statistics® versión 25.0 (IBM Corp., Armonk, NY) para el análisis estadístico y se aceptó como significativo un valor de $p < 0,05$.

Resultados

Pacientes

Se incluyó un total de 51 pacientes. La Tabla 1 muestra en detalle los datos demográficos, epidemiológicos y clínicos de la población de estudio, además de las indicaciones de prescripción de voriconazol y datos de seguimiento del fármaco.

Tabla 1: Datos de los pacientes (demográficos, analíticos y clínicos) y de voriconazol (prescripción y monitorización).

Parámetro	Valor
Datos demográficos y analíticos	
Sexo masculino, n (%)	31 (60,8)
Edad (años), mediana (IQR)	65,2 (54,5-71,3)
Peso (kg), mediana (IQR)	70,0 (62,0-81,0)
IMC, mediana (IQR)	25,6 (22,3-29,6)
Antecedentes patológicos	

Parámetro	Valor
Insuficiencia renal, n (%)	10 (19,6)
Enolismo crónico, n (%)	6 (11,8)
Insuficiencia hepática, n (%)	1 (2,0)
Pancreatitis, n (%)	2 (3,9)
Perfil del paciente	
Enfermedad hematológica, n (%)	19 (37,2)
Post trasplantado, n (%)	13 (25,5)
Post cirugía, n (%)	9 (17,6)
Enfermedad oncológica, n (%)	6 (11,8)
Enfermedad autoinmune, n (%)	3 (5,9)
Sin antecedentes, n (%)	1 (2,0)
Indicación del fármaco	
Aspergilosis invasiva (tratamiento empírico), n (%)	24 (47,1)
Aspergilosis invasiva (tratamiento dirigido), n (%)	17 (33,3)
Candidemia en pacientes no neutropénicos, n (%)	4 (7,8)
Fuera indicación, n (%)	4 (7,8)
Infecciones no invasivas graves por Candida sp. resistente a fluconazol, n (%)	1 (2,0)
Profilaxis de los receptores de trasplante de células madres hematopoyéticas, n (%)	1 (2,0)
Vía de administración en el momento de monitorización	
Oral, n (%)	151 (91,5)
Intravenosa, n (%)	14 (8,5)
Tipo de forma farmacéutica oral usada según paciente	
Comprimidos, n (%)	40 (78,4)
Suspensión oral, n (%)	11 (21,6)

Parámetro	Valor
Paciente hospitalizado / ambulatorio, n (%)	95 (57,6) / 70 (42,4)
Determinaciones (det.) por paciente de C_{min} de voriconazol	
1, n (%)	21 (41,2)
2, n (%)	10 (19,6)
3, n (%)	3 (5,9)
4, n (%)	8 (15,7)
5-9, n (%)	5 (9,8)
≥10, n (%)	4 (7,8)
Duración del tratamiento (días), mediana (IQR)	
Todos los pacientes (días), mediana (IQR)	62,0 (20,5-141,5)
Pacientes con 1 det. (días), mediana (IQR)	11 (7-23,5)
Pacientes con 2 det. (días), mediana (IQR)	85 (67-141,5)
Pacientes con >2 det. (días), mediana (IQR)	145 (67-179)
mg/kg/día voriconazol, mediana (IQR)	5,8 (5,0-6,6)
Causas finalización tratamiento	
Curación, n (%)	17 (30,9)
Efectos adversos, n (%)	9 (16,4)
<i>Exitus</i> o limitación del esfuerzo terapéutico, n (%)	8 (14,5)
Cultivo negativo en tratamiento empírico, n (%)	7 (12,7)
Cambio por otro antifúngico por fallo terapéutico o baja adherencia, n (%)	5 (9,1)
Otras razones, n (%)	9 (16,4)

Nota: aunque la muestra total es de 51 pacientes, en el periodo del mismo año, cuatro pacientes con aspergilosis invasiva iniciaron y finalizaron tratamiento con voriconazol en dos ocasiones distintas.

Concentraciones plasmáticas de voriconazol

Se analizaron 165 C_{\min} de voriconazol. La mediana de C_{\min} (IQR) fue de 2,4 $\mu\text{g/mL}$ (1,4-3,6). El 63,6% ($n=105$) de C_{\min} estaban dentro del margen terapéutico mientras que el 15,8% ($n=26$) mostraron valores $<1\mu\text{g/mL}$ y el 20,6% restante ($n=34$) $>4\mu\text{g/mL}$.

El 94,1% ($n=48$) de los pacientes iniciaron tratamiento con voriconazol según las recomendaciones posológicas por ficha técnica⁽¹⁾. El 41,2% ($n=21$) de las C_{\min} iniciales estaban fuera del margen terapéutico. Del 58,8% ($n=30$) de los casos restantes en que la primera C_{\min} estuvo dentro del intervalo terapéutico, el 30% ($n=9$) mostró como mínimo una C_{\min} posterior fuera del intervalo óptimo.

De las C_{\min} consideradas fuera de margen terapéutico, la dosis se ajustó en diez de los 26 casos con C_{\min} infraterapéutica y en cinco de los 34 casos con C_{\min} supratapéutica. Tras el ajuste, se consiguió que el 66,7% de las C_{\min} estuvieran dentro del intervalo recomendado. De nuestra cohorte de pacientes, a 30 de los 51 (58,8%) pacientes se les realizó más de una determinación de concentraciones plasmáticas. En el 40% de estos casos (12 pacientes), fue debido a un cambio en la posología de voriconazol derivado de un valor de C_{\min} fuera del intervalo terapéutico óptimo. En el 60% de los casos (18 pacientes) restantes, se realizó más de una determinación debido a que la duración del tratamiento en estos pacientes fue mayor, como se puede observar en los resultados expuestos en la tabla 1.

Se detectó una potencial interacción farmacológica, con rifampicina, sin un impacto en la posterior C_{\min} de voriconazol, ya que la interacción farmacológica fue detectada rápidamente y se suspendió el tratamiento con rifampicina. Por otro lado, en el 43,0% de las ocasiones, los pacientes recibían medicación concomitante con corticoides.

El 47,1% de la cohorte estudiada ($n=24$) era mayor de 65 años y, por otra parte, en un 13,3% ($n=22$) de las monitorizaciones, correspondientes a 11 pacientes (21,6%), la concentración de albúmina en el momento de la determinación fue inferior a 27 g/L. Se encontró una asociación estadísticamente significativa entre C_{\min} de voriconazol mayores y edades >65 años o valores de albúmina sérica <27 g/L ($p=0,006$ y $p<0,001$, respectivamente). No hubo diferencias estadísticamente significativas en las C_{\min} de voriconazol entre sexos ($p=0,383$), peso ($p=0,552$), antecedentes de enolismo ($p=0,053$), vía de administración ($p=0,535$), ni tratamiento concomitante con corticosteroides ($p=0,263$). No obstante, en este último caso, se apreció que en el subgrupo de población con $C_{\min} <1\mu\text{g/mL}$ había una tendencia a presentar C_{\min} de voriconazol inferiores ($p=0,052$).

Discusión

Los resultados de este estudio confirman la existencia de una alta variabilidad interindividual en las C_{\min} de voriconazol determinadas en práctica clínica pertenecientes a una población heterogénea.

Es relevante destacar que, a pesar de seguir las recomendaciones de dosificación por ficha técnica, un porcentaje nada despreciable de C_{\min} (36,4%) resultó estar fuera del intervalo terapéutico recomendado. A pesar de que se han identificado diferentes variables que influyen la farmacocinética de voriconazol^(2,3), no existen unas recomendaciones posológicas basadas en dichas variables, a excepción de las propuestas según polimorfismo genético de CYP2C19⁽¹³⁾. Por ese motivo, se sigue abogando por la MFC de C_{\min} del fármaco para la optimización de dosis.

Sin embargo, existen discrepancias entre guías sobre cuándo implementar la MFC (expuestas en la tabla 2). De las guías que aconsejan realizar la MFC sólo en casos determinados⁽⁷⁻⁹⁾, coinciden en el siguiente: (i) coadministración con fármacos con potencial de interactuar, (ii) sospecha de toxicidad o ineficacia, (iii) disfunción hepática e (iv) infección grave o diseminada⁽⁷⁻⁹⁾. En el caso de haber aplicado en nuestro centro la MFC sólo a los pacientes que cumplieran algunas de las citadas recomendaciones y no a la totalidad, sólo se hubiesen detectado un 30,3% de todas las C_{\min} fuera de rango preestablecido.

No obstante, de haber aplicado además los criterios mencionados en la guía europea (ESCMID-EC-MM-ERS)⁽⁹⁾, se hubiesen detectado casi la totalidad de C_{\min} fuera de rango (91,1%). Es destacable que,

de seguir estas recomendaciones, un 11,7% (n=6) de nuestros pacientes no cumplirían criterios para realizar MFC.

Tabla 2: Recomendaciones de monitorización farmacocinética (MFC) de la concentración plasmática de voriconazol según guías

Sociedad científica (año de publicación) (referencia)	Recomendación sobre cuándo realizar MFC
British society for medical mycology (2014) ⁽⁴⁾	Todo paciente en tratamiento con voriconazol
Infectious diseases society of America (2016) ⁽⁵⁾	Todo paciente en tratamiento con voriconazol
Grupo de Estudio de Micología Médica (GEMICOMED) de la Sociedad Española de Enfermedad Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) (2019) ⁽⁶⁾	Todo paciente en tratamiento con voriconazol
Japanese Society of Chemotherapy and the Japanese Society of Therapeutic Drug Monitoring (2013) ⁽⁷⁾	<ul style="list-style-type: none"> - Sospecha de ineficacia o toxicidad - Infección grave o invasiva - Concomitancia con fármacos metabolizados por CYP450 - Profilaxis en trasplante hematopoyético de medula ósea - Paciente pediátrico
Division of therapeutic drug monitoring, Chinese pharmacological society (2018) ⁽⁸⁾	<ul style="list-style-type: none"> - Sospecha de ineficacia o toxicidad - Infección grave o invasiva - Concomitancia con fármacos metabolizados por CYP450 - Pacientes con CYP450 2C19 o con disfunción hepática.
The European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID), the European Confederation of Medical Mycology (ECMM) and the European Respiratory Society (ERS) (2018) ⁽⁹⁾	<ul style="list-style-type: none"> - Sospecha de ineficacia, toxicidad o mala adherencia - Infección grave o invasiva - Concomitancia con fármacos metabolizados por CYP450 - Paciente pediátrico o mayor de 65 años - Paciente crítico, obeso o con reciente trasplante hematopoyético. - Cambio en la función gastrointestinal o hepática del paciente. - Cambio en la posología o en la vía de administración.

Otro hallazgo importante es que el 75,0% de las determinaciones que se encontraban fuera del intervalo terapéutico no resultaron en un cambio posológico del fármaco. Es probable que, por un lado, la falta de consenso en el margen terapéutico recomendado para las C_{min} de voriconazol⁽⁴⁻⁹⁾, y, por otro lado, su farmacocinética no lineal, dificultan el ajuste posológico y la toma de decisiones en práctica clínica⁽⁴⁻⁹⁾.

La vía de administración de voriconazol mayoritaria en el momento de la monitorización fue la vía oral. Esta variable parece influir en las C_{min} de voriconazol, observándose valores superiores cuando se emplea la vía endovenosa⁽²⁾⁽¹⁴⁾. Nuestros datos concuerdan con la literatura, aunque las diferencias no resultaron ser estadísticamente significativas. Entre las presentaciones orales, se usaron de forma preferente los comprimidos frente a la suspensión oral. No obstante, no se espera una diferencia en las C_{min} , ya que ambas presentaciones son bioequivalentes con una biodisponibilidad del 96%⁽¹⁰⁾.

La ficha técnica de voriconazol hace referencia a fármacos en los que su administración concomitante está contraindicada⁽¹⁾. Además, en base a la experiencia clínica, se han observado otros fármacos cuyo impacto en las C_{min} de voriconazol podría ser significativo. Por ejemplo, varios trabajos retrospectivos^(14,15) han asociado el uso concomitante con corticoides con C_{min} de voriconazol inferiores. Una hipótesis es que los glucocorticoides inducen el CYP2C19 y posiblemente, también de CYP3A4, provocando un incremento del metabolismo de voriconazol⁽¹⁴⁾. En nuestra cohorte de pacientes, se apreciaron C_{min} inferiores en el subgrupo de pacientes con $C_{min} < 1 \mu\text{g/mL}$ si recibían tratamiento concomitante con corticosteroides. Sin embargo, esta diferencia no se pudo detectar en los otros subgrupos de pacientes, probablemente por una limitación del tamaño muestral.

Finalmente, en nuestra población de estudio encontramos una tendencia a presentar C_{min} de voriconazol significativamente superiores en pacientes >65 años o con albúmina sérica <27g/L. En el pacien-

te geriátrico, la expresión de las enzimas de biotransformación y el porcentaje de agua disminuye, mientras que el de grasa aumenta. Esto conlleva a una distribución aparente mayor y un metabolismo menos eficaz, por lo que las C_{\min} aumentan³. Respecto a la hipoalbuminemia, considerando la alta unión a proteínas plasmáticas de voriconazol, una explicación plausible es que el aumento de fármaco libre en plasma derivado de la disminución de albúmina sérica no sería eliminado ni distribuido instantáneamente, debido a la saturación del metabolismo y a que sólo un 2% del fármaco se excreta por orina sin metabolizar^(2,3).

Este estudio cuenta con las limitaciones propias de los estudios retrospectivos, a parte del pequeño tamaño muestral, que probablemente haya impedido la identificación de otras variables con impacto sobre las C_{\min} . Para el análisis de concentraciones no se han tenido en cuenta factores importantes como el polimorfismo genético del paciente o posibles interacciones farmacológicas. Como puntos fuertes, ofrece una visión real del uso de este fármaco en un hospital de tercer nivel y se analizan pacientes con diferentes perfiles clínicos. Creemos que, gracias a la gran variedad de perfiles de pacientes encontrados en el año de estudio, no habría grandes diferencias con resultados obtenidos con cohortes más actuales.

A la vista de los resultados obtenidos, sería interesante establecer en nuestro hospital un protocolo consensuado entre todas las especialidades clínicas implicadas sobre monitorización de voriconazol. En éste, se podrían utilizar las recomendaciones de la guía ESCMID-ECMM-ERS sobre cuándo monitorizar, así como también el intervalo terapéutico óptimo a conseguir y los ajustes de dosis a realizar en caso de obtener valores plasmáticos fuera del intervalo óptimo.

En conclusión, nuestro estudio confirma la alta variabilidad interindividual en las C_{\min} de voriconazol en una población heterogénea, con un 36,4% de los casos con C_p fuera del intervalo óptimo. También identificamos la edad y la concentración de albúmina como factores que influyen las C_{\min} de voriconazol y observamos que las condiciones descritas en las guías ESCMID-ECMM-ERS permiten detectar casi la totalidad de C_{\min} de voriconazol fuera de rango terapéutico, evitando realizar MFC a todos los pacientes en tratamiento.

Bibliografía

1. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Ficha técnica Vfend 200mg comprimidos recubiertos con película [internet] Madrid. Centro de Información de Medicamentos (CIMA) [consultado 10/01/2021]. Disponible en: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/02212015/FT_02212015.html
2. Wei X, Zhao M, Fu P, Xiao X. Risk factors associated with insufficient and potentially toxic voriconazole plasma concentrations: an observational study. *J Chemother.* 2019;31(7-8):401-7. doi: 10.1080/1120009X.2019.1646974
3. Wang T, Chen S, Sun J, Cai J, Cheng X, Dong H, et al. Identification of factors influencing the pharmacokinetics of voriconazole and the optimization of dosage regimens based on Monte Carlo simulation in patients with invasive fungal infections. *J Antimicrob Chemother.* 2014;69(2):463-70. doi: 10.1093/jac/dkt369
4. Ashbee HR, Barnes RA, Johnson EM, Richardson MD, Gorton R, Hope WW. Therapeutic drug monitoring (TDM) of antifungal agents: Guidelines from the british society for medical mycology. *J Antimicrob Chemother.* 2014;69(5):1162-76. doi: 10.1093/jac/dkt508
5. Patterson TF, Thompson GR, Denning DW, Fishman JA, Hadley S, Herbrecht R, et al. Practice guidelines for the diagnosis and management of aspergillosis: 2016 update by the infectious diseases society of America. *Clin Infect Dis.* 2016;63(4):e1-60. doi: 10.1093/cid/ciw326
6. Garcia-Vidal C, Alastruey-Izquierdo A, Aguilar-Guisado M, Carratalà J, Castro C, Fernández-Ruiz M, et al. Executive summary of clinical practice guideline for the management of invasive diseases caused by *Aspergillus*: 2018 Update by the GEMICOMED-SEIMC/REIPI. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2019;37(8):535-541. doi: 10.1016/j.eimc.2018.03.018.

- 7.** Hamada Y, Tokimatsu I, Mikamo H, Kimura M, Seki M, Takakura S, et al. Practice guidelines for therapeutic drug monitoring of voriconazole: A consensus review of the Japanese Society of Chemotherapy and the Japanese Society of Therapeutic Drug Monitoring. *J Infect Chemother.* 2013;19(3):381–92. doi: 10.1007/s10156-013-0607-8
- 8.** Chen K, Zhang X, Ke X, Du G, Yang K, Zhai S. Individualized medication of voriconazole: A practice guideline of the Division of therapeutic drug monitoring, Chinese pharmacological society. *Ther Drug Monit.* 2018;40(6):663–74. doi: 10.1097/FTD.0000000000000561
- 9.** Ullmann AJ, Aguado JM, Arian-Akdagli S, Denning DW, Groll AH, Lagrou K, et al. Diagnosis and management of Aspergillus diseases: executive summary of the 2017 ESCMID-ECMM-ERS guideline. *Clin Microbiol Infect.* 2018;24:1–38. doi: 10.1016/j.cmi.2018.01.002
- 10.** IBM Micromedex®. Drug Interaction Checking [Base de datos en Internet]. Greenwood Village (CO): IBM Watson Health; 2010 [14/05/2020; 10/01/2021]. Disponible en: <http://www.micromedexsolutions.com>
- 11.** Medscape®. Drug interactions checker [Base de datos en Internet]. New York (NY): Medscape, LLC; 2015 [30/06/2020; 10/01/2021]. Disponible en: <http://reference.medscape.com/drug-interactionchecker>
- 12.** European Medicines Agency. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP), Guideline on bioanalytical method validation EMEA/CHMP/EWP/192217/2009 Rev. 1 Corr. 2** (2011). Disponible en: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2011/08/WC500109686.pdf
- 13.** Moriyama B, Obeng AO, Barbarino J, Penzak SR, Henning SA, Scott SA, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guidelines for CYP2C19 and Voriconazole Therapy. *Clin Pharmacol Ther.* 2017;102(1):45–51. doi: 10.1002/cpt.583. Erratum in: *Clin Pharmacol Ther.* 2018;103(2):349
- 14.** Dolton MJ, Ray JE, Chen SC, Ng K, Pont LG, McLachlan AJ. Multicenter study of voriconazole pharmacokinetics and therapeutic drug monitoring. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(9):4793–9. DOI: 10.1128/AAC.00626-12
- 15.** Blanco-Dorado S, Maroñas O, Rodríguez-Jato MT, López-Vizcaíno A, et al. Impact of CYP2C19 Genotype and Drug Interactions on Voriconazole Plasma Concentrations: A Spain Pharmacogenetic-Pharmacokinetic Prospective Multicenter Study. *Pharmacotherapy.* 2020;40(1):17–25. DOI: 10.1002/phar.2351

doi: 10.30827/ars.v62i3.15917

Artículos de revisión

Calidad Biofarmacéutica e Intercambiabilidad de Medicamentos

Biopharmaceutical Quality and Interchange of Drugs

Lennin Rodriguez-Saavedra^{1,2}  0000-0001-8377-6434

Luis Cruz-Aranda²  0000-0002-3293-6765

Claudia Cruz-Julca²  0000-0002-2912-7238

Pedro Alva-Plasencia²  0000-0002-0009-7143

¹Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Lima, Perú.

²Universidad Nacional de Trujillo, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Departamento de Farmacotecnia, Trujillo, Perú.

Correspondencia

Lennin Rodriguez-Saavedra
lennin.rodriguez@unmsm.edu.pe

Financiación

Sin financiación

Conflicto de intereses

Los autores dejan constancias que no existe ningún tipo de conflicto de intereses con la investigación realizada y los resultados expresados en el presente artículo.

Received: 15.09.2020

Accepted: 21.03.2021

Published: 21.06.2021

Resumen

Introducción: La industria farmacéutica que busca la aprobación para comercializar un medicamento genérico debe presentar datos que demuestren que la formulación genérica proporciona la misma calidad, eficacia y seguridad que el medicamento innovador. Por lo tanto, la mayoría de los medicamentos genéricos administrados por vía oral están aprobados en función de los resultados de uno o más estudios fisicoquímicos y biofarmacéuticos para demostrar bioequivalencia y posterior intercambiabilidad.

Objetivo: Identificar en los artículos de investigación las posibles diferencias entre las pruebas fisicoquímicas y biofarmacéuticas de bioequivalencia de medicamentos genéricos con la de sus homólogos ya comercializados.

Método: Se realizó la revisión de estudios de investigación originales, publicados desde enero del año 2003 hasta diciembre del 2019. Se consultaron 4 bases de datos Pubmed, ScienceDirect, Lilacs, Scielo. En inglés y español. Los descriptores utilizados fueron medicamento genérico, bioequivalencia, equivalencia terapéutica e intercambiabilidad, así mismo solo se seleccionaron aquellos artículos donde su forma farmacéutica de estudio fuese comprimidos.

Resultados: Se seleccionaron en total 40 artículos para su evaluación, de los cuales 19 llegaron a la conclusión de bioequivalencia, otros 19 determinaron no bioequivalencia, para 1 no existía una conclusión definitiva, mientras que en 1 estudio que evaluaba a 3 medicamentos, la conclusión fue no bioequivalencia para 2 de ellos y para el tercero sí la había.

Conclusión: La revisión revela que los estudios son insuficientes para indicar bioequivalencia entre los fármacos multifuentes (genéricos) y los innovadores, por lo que se necesita ampliar los estudios de bioequivalencia.

Palabras clave: Equivalencia terapéutica; intercambiabilidad de medicamentos; medicamento genérico; medicamento de referencia.

Abstract

Introduction: The pharmaceutical industry seeking approval to market a generic drug must submit data demonstrating that the generic formulation provides the same quality, efficacy, and safety of the innovative drug. Therefore, most orally administered generic drugs are approved based on the results of one or more physicochemical and biopharmaceutical studies to demonstrate bioequivalence and subsequent interchangeability.

Objective: Identify in research articles the possible differences between the physicochemical and biopharmaceutical tests of bioequivalence of generic drugs with that of their corresponding innovative equivalents.

Method: The original research studies, published from January 2003 to December 2019, were reviewed. 4 databases were consulted Pubmed, ScienceDirect, Lilacs, Scielo. In English and Spanish. The descriptors used were generic medicine, bioequivalence, therapeutic equivalence and interchangeability, likewise only those articles where their study pharmaceutical form was tablets were selected.

Results: A total of 40 articles were selected for evaluation, of which 19 reached the conclusion of bioequivalence, another 19 determined non-bioequivalence, for 1 there was no definitive conclusion, while in a study that evaluated 3 drugs, the conclusion was no bioequivalence for 2 of them and bioequivalence for one.

Conclusions: The review reveals that the studies are insufficient to indicate bioequivalence between multi-source (generic) and innovative drugs, so that bioequivalence studies need to be expanded.

Keywords: Therapeutic equivalency; interchangeability of Drug; generic drug; reference drugs.

Puntos Clave

La bioequivalencia es un concepto fundamental para entender la intercambiabilidad farmacológica de medicamentos de síntesis química y biofármacos, por lo que es esencial que la legislación farmacéutica contemple criterios basados en la evidencia científica para garantizar la intercambiabilidad, mientras que la entidad reguladora debe tener un rol activo en la educación hacia los usuarios.

La mayoría de los medicamentos genéricos administrados por vía oral están aprobados en base a los resultados de uno o más estudios fisicoquímicos y biofarmacéuticos para evidenciar bioequivalencia y posterior intercambiabilidad. Es por ello que en el presente estudio se llevó a cabo la revisión de estudios de investigación originales, publicados desde enero del año 2003 hasta diciembre del 2019 los cuales fueron consultados en Pubmed, ScienceDirect, Lilacs, Scielo; con lo cual se sugiere acrecentar este tipo de estudios para asegurar equivalencia terapéutica y la correspondiente intercambiabilidad.

Introducción

Un medicamento es cualquier sustancia destinada a ser utilizada en el diagnóstico, cura, alivio, tratamiento y prevención de enfermedades.⁽¹⁾ Según la Administración de Alimentos y Medicamentos de los EE. UU. (FDA de los EE. UU.)⁽¹⁾, una especialidad farmacéutica genérica es idéntica o bioequivalente a un medicamento de marca en forma de dosificación, seguridad, concentración, vía de administración, calidad, características de rendimiento y uso previsto. Según las definiciones reguladoras, los medicamentos genéricos deben ser idénticos a su referencia con respecto al principio activo, la vía de administración y los estándares de calidad⁽¹⁾. Por lo tanto, los medicamentos genéricos son igualmente efectivos y seguros que los medicamentos de marca. Las medicinas genéricas son producidas y distribuidas sin ninguna protección de patente. Los medicamentos genéricos están disponibles una vez que las protecciones de patentes otorgadas al medicamento de marca original hayan expirado, en el caso de las leyes europeas éstas se extienden por 20 años.⁽²⁾ Midhal y McKay indican que los medicamentos innovadores tienen que demostrar su eficacia y seguridad clínica, mientras que los genéricos se consideran terapéuticamente equivalentes basados en pruebas simples de bioequivalencia.⁽³⁾ El aumento del costo de los medicamentos ha contribuido al aumento del costo de la atención médica, por lo cual las especialidades farmacéuticas genéricas son una opción de ahorro además de facilitar el acceso a los medicamentos prescritos y como resultado de la enorme carga económica sobre el costo de la prestación médica, el uso de medicamentos genéricos aumenta constantemente.⁽⁴⁾ Con la introducción de los medicamentos genéricos, la competencia en el mercado conduce a precios más bajos tanto para el medicamento innovador de marca como para los medicamentos genéricos. Por lo tanto, el medicamento genérico cuesta menos que sus equivalentes de marca originales.⁽⁵⁾ Una de las estrategias para reducir el costo de los medicamentos y, por lo tanto, reducir su contribución a los costos totales de prestación sanitaria, ha sido la introducción de equivalentes genéricos de medicamentos de marca/medicamentos innovadores. Los medicamentos genéricos, por lo tanto, brindan la oportunidad de ahorrar en costos de prestación sanitaria.⁽⁴⁾

En diversas enfermedades los medicamentos genéricos han demostrado ser más rentables que los medicamentos de marca, y al ser utilizados correctamente generan un importante ahorro en la salud pública, reduciendo los gastos sanitarios en general. Se calcula que los países podrían ahorrarse alrededor de un 60% de sus gastos farmacéuticos si en lugar de medicamentos originales adquirieran productos genéricos. Pero esto solo lo hacen unos pocos países ricos y de ingresos medianos⁽⁵⁾.

Por ejemplo, en países desarrollados queda demostrado que el uso de genéricos se traduce en un ahorro considerable para el estado. Tal es el caso de Estados Unidos que representan alrededor de 70% del número total de prescripciones y menos del 20% del coste total de los medicamentos prescritos. En Europa, la media de los genéricos está alrededor de 40%, y en 2007, el Reino Unido ahorró unos 6 000 millones de euros gracias a la prescripción de genéricos, mientras que en España el ahorro supuso únicamente unos 125 millones de euros, es por ello que consideramos la importancia de seguir realizando este tipo de estudios con el fin de permitir a la población acceder a medicamentos de calidad y de bajo costo⁽⁶⁾.

En base a todo ello, el objetivo del presente trabajo se centra en revisar y analizar cómo se han realizado los diferentes estudios de calidad fisicoquímica y biofarmacéutica en comparación de los medicamentos genéricos con sus equivalentes innovadores.

Método

Se realizó la revisión de estudios de investigación originales, publicados de 2003 a/hasta 2019. La búsqueda bibliográfica se realizó en las bases de datos Pubmed, Science Direct, Lilacs, Scielo. En los idiomas: inglés y español.

La búsqueda se realizó utilizando los términos, (“drugs, generic”[Mesh] OR “drugs, generic” [Title/Abstract]) AND (“Bioequivalence”[Mesh] OR “Bioequivalence” [Title/Abstract]) OR “Therapeutic equivalence”[Mesh] OR “Therapeutic equivalence”[Title/Abstract].

Los criterios de inclusión son los estudios originales que aportan información sobre controles de calidad fisicoquímico y biofarmacéutico de medicamentos innovadores con sus respectivos genéricos en forma de comprimidos.

Los criterios de exclusión son aquellos estudios donde la forma farmacéutica es diferente a la de comprimidos.

Definiciones.

Medicamento genérico: Medicamento similar a un producto de referencia o innovador, que pretende ser intercambiable con este, generalmente producido después de la expiración o renuncia de la protección de patente o de otros derechos de exclusividad, comprobada su eficacia, seguridad y calidad⁽⁶⁾.

Medicamento innovador: Generalmente es aquel que fue autorizado por primera vez sobre la base de documentación de calidad, seguridad y eficacia. Producto o especialidad medicinal que contiene una nueva molécula, no comercializada hasta ese momento y que ha pasado por todas las fases del desarrollo de una nueva formulación-nuevo principio activo (fases pre-clínicas y fases clínicas I, II, III). Puede ser el producto que cuente con el registro más antiguo ante la autoridad sanitaria⁽⁶⁾.

Bioequivalencia: Es la comparación de las biodisponibilidades de una forma farmacéutica tomada como referencia y una forma farmacéutica genérica en estudio. Se comparan los parámetros fisicoquímicos y biofarmacéuticos⁽⁶⁾.

Intercambiabilidad: Cualidad de ser producto equivalente farmacéutico intercambiable⁽⁶⁾.

El término “uniformidad de unidades de dosificación” se define como el grado de uniformidad en el contenido del fármaco entre las unidades de dosificación. Son aplicables a cada fármaco incluido en unidades de dosificación que contengan uno o más fármacos, a menos que se especifique algo diferente. La uniformidad de las unidades de dosificación se puede demostrar mediante uno de los siguientes métodos, Uniformidad de Contenido o Variación de Peso.⁽⁷⁾

La prueba de friabilidad consiste en colocar las tabletas a girar en un cilindro rotatorio con el fin de determinar su resistencia a las desportilladuras y la abrasión de su superficie. Generalmente, la prueba se realiza una vez. Si se encuentran tabletas claramente agrietadas, segmentadas o rotas en la muestra de tabletas después de la prueba, la muestra no ha pasado la prueba. El porcentaje de pérdida de peso después de la rotación se conoce como friabilidad de las tabletas. Durante la prueba de friabilidad se considera aceptable una pérdida de peso máxima de no más del 1% del peso de las tabletas.⁽⁸⁾

La dureza es la cantidad de fuerza o resistencia para soportar choques mecánicos. Como sabemos la dureza no es una prueba oficial, no existe tal límite de dureza, pero una fuerza de alrededor de 4 Kp se considera un requisito mínimo para obtener tabletas satisfactorias.⁽⁹⁾

El tiempo de desintegración, esta prueba sirve para determinar si las tabletas o cápsulas se desintegran dentro del tiempo establecido cuando se las coloca en un medio líquido en las condiciones experimentales que se presentan a continuación. Se requiere el cumplimiento con los límites de desintegración establecidos en las monografías individuales excepto cuando la etiqueta indica que las tabletas o cáps-

sulas están destinadas para su uso como trociscos (troches) o para ser masticadas o están diseñadas como formas farmacéuticas de liberación prolongada o formas farmacéuticas de liberación retardada. El tiempo de desintegración estándar para las tabletas recubiertas no debe ser superior a 30 minutos. A los efectos de esta prueba, la desintegración no implica la disolución completa de la unidad ni de su ingrediente activo. Se define como desintegración completa al estado en el cual los residuos de la unidad, excepto la cubierta insoluble de una cápsula o los fragmentos del recubrimiento insoluble, que permanezcan en el tamiz del aparato de prueba o se adhieran a la superficie inferior del disco, constituyen una masa blanda sin un núcleo firme y palpable.⁽¹⁰⁾

El perfil de disolución se construye analizando la cantidad de fármaco liberado en múltiples tiempos a lo largo del ensayo, de modo que al final se define una curva que representa la forma en que ocurre la disolución durante todo el proceso⁽¹¹⁾. Aunque este parámetro no sea una prueba farmacopeica oficial, la FDA recomienda su uso, debido a la información que aporta, principalmente para hacer comparaciones; resaltando los factores de diferencia f_1 y de similitud f_2 , y la eficiencia de la disolución (ED). El f_2 compara y determina numéricamente qué tan parecidos son dos perfiles de disolución entre sí, utiliza los porcentajes temporales disueltos de los medicamentos, y cuando presenta valores comprendidos entre 50 y 100 es indicativo de similitud de las curvas y la ED caracteriza la liberación del fármaco.^(12,13)

Resultados

Se seleccionaron en total 40 artículos para su evaluación, de los cuales 19 llegaron a la conclusión de bioequivalencia, otros 19 determinaron no bioequivalencia, para uno no existía una conclusión definitiva, mientras que en un estudio que evaluaba 3 medicamentos, la conclusión fue no bioequivalencia para 2 de ellos y bioequivalencia para 1, lo cual concluye como no bioequivalente.

Se encontró una mayor cantidad de estudios de bioequivalencia realizados a los medicamentos ciprofloxacino^(13,23,24,25,26) y metformina^(42,43,44,45), en número de cinco y cuatro respectivamente. Seguido de 2 estudios para cada uno de los siguientes fármacos: albendazol^(12,15), cefalexina^(21,22), diclofenaco^(29,30), ibuprofeno^(34,35), ketorolaco^(36,37) y paracetamol^(46,47) (acetaminofen). También se encontró un solo estudio de bioequivalencia para ácido acetilsalicílico⁽¹⁰⁾, alprazolam⁽¹⁶⁾, amoxicilina⁽¹⁷⁾, dexametasona⁽²⁷⁾, diazepam⁽²⁸⁾, eritromicina⁽³¹⁾, esomeprazol⁽³²⁾, gliclazida⁽³³⁾, lamotrigina⁽³⁸⁾, levofloxacino⁽⁴⁰⁾, loratadina⁽⁴¹⁾, propranolol⁽⁴⁸⁾, simvastatina⁽⁴⁹⁾ y valsartán⁽⁵⁰⁾. Por otro lado, tenemos los estudios de bioequivalencia realizados a medicamentos combinados como: amoxicilina/ácido clavulánico⁽¹⁸⁾ y levodopa/benserazida⁽³⁹⁾; así como informes que evaluaban la bioequivalencia para más de un medicamento como es el caso de los estudios en conjunto de metformina y propranolol⁽⁴⁵⁾, captopril y losartán⁽²⁰⁾ y amoxicilina, doxiciclina y fluconazol⁽¹⁹⁾.

En los artículos evaluados, en su mayoría, lograban cumplir con los ensayos farmacopeicos establecidos tales como variación de peso^(10,13,14,16,18-20,23,25,26,29,30,33,34,36,37,40,41,44,46,47,50), dureza^(10,13,14,16,18-20,23,25,26,29,30,31-33,36-38,40,41,44), desintegración^(13,14,16,18-20,23,25,26,29,30,32-34,36-41,44,46,47,49,50), velocidad de disolución^(10,13,14,16,18-20,23,25,26,29,32,35,40,41), eficiencia de la disolución^(10,13,14,16,18-20,23,25,26,29,32,35,40,41) y valoración de principio activo^(15,21,22,24,27,28,32-35,38,42,43,47,48), pero no cumplían con el ensayo de perfil de disolución^(10,12,13,16-18,20-23,26,32-39,41,42,44,45,47), debido a que presentaban valores para factor diferencia (f_1) mayores a 15 o valores menores a 50 para factor de similitud (f_2).

De los 40 estudios analizados en 24 se realizaron las pruebas de variación de peso y dosificación que representan el 60% de estudios, en 22 se realizó la prueba de friabilidad que representa el 55% del total de estudios, en 23 se analizó la dureza que representa el 57,5% del total, en 25 se analizó la desintegración que es el 62,5 % del total de estudios, en 14 se realizó la prueba de velocidad de disolución se representa en 35% de estudios, en 13 se realizó las pruebas de eficiencia de disolución y uniformidad de contenido que representan el 32,5 % del total, en 39 se hizo la prueba de perfil de disolución se representa en 97,5 % de estudios y en 19 se analizó la valoración que representa el 47,5 % del total de estudios.

Tabla 1. Estudios de bioequivalencia entre el medicamento innovador con su respectivo medicamento genérico de diferentes principios activos

Autor	Revista	Principio Activo	Variación de peso	Friabilidad	Dureza	Desintegración	Velocidad de disolución	Dosificación	Perfil de disolución	Valoración	Uniformidad del contenido	Bioequivalencia
Osorio et al., 2015(10)	Revista Cubana de Farmacia	Ácido acetilsalicílico	X	X	X		X	X	X			Sí
León et al. 2015(14)	Revista Cubana de Farmacia	Acetaminofén	X	X	X	X	X	X				No
Mayet et al. 2008(15)	Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas	Albendazol								X	X	No
Alva et al. 2015(12)	Revista Farmaciencia	Albendazol							X			Si
Ashnagar et al. 2007(16)	E-Journal of Chemistry	Alprazolam	X	X	X	X	X	X	X			Si
Daza, M. 2013(17)	REVISTA CON-CIENCIA	Amoxicilina							X			Si
Al-tabakha et al. 2017(18)	Pharmaceutics	Amoxicilina/ácido clavulánico	X	X	X	X	X	X	X			Si
Grande-Ortiz et al. 2019(19)	Rev Peru Med Exp Salud Publica	Amoxicilina, doxiciclina y fluconazol	X	X	X	X	X	X				No
Matiz y Rodriguez. 2014(20)	Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.	Captopril y losartán	X	X	X	X	X	X	X			Si
González et al. 2006(21)	Acta Farm. Bonaerense	Cefalexina							X	X	X	Si
Cáceres y Fretes. 2017(22)	Rev. Fac. Cienc. Salud UDES	Cefalexina							X	X	X	Si
Adegbolagun et al. 2007(23)	Tropical Journal of Pharmaceutical Research	Ciprofloxacino	X	X	X	X	X	X	X			Si
Brevedan et al. 2009(24)	Latin American Journal of Pharmacy	Ciprofloxacino								X	X	No
Martínez et al. 2010(25)	Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas	Ciprofloxacino	X	X	X	X	X	X				No
Oishi et al. 2011(26)	IJPSR	Ciprofloxacino	X	X	X	X	X	X	X			Si
Franco-Ospina et al. 2012(13)	Rev. salud pública	Ciprofloxacino	X	X	X	X	X	X	X			Si
Baishya et al. 2018(27)	International Journal of Research in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences	Dexametazona								X	X	No

Autor	Revista	Principio Activo	Variación de peso	Friabilidad	Dureza	Desintegración	Velocidad de disolución	Dosificación	Perfil de disolución	Valoración	Uniformidad del contenido	Bioequivalencia
Herrera-Calderón y Grande-Ortiz. 2012(28)	Rev Med Hered.	Diazepam								X	X	No
Al Ragib et al. 2018(29)	RJLBPCS	Diclofenaco	X	X	X	X	X	X				No
Matiz et al. 2018(30)	Biomédica	Diclofenaco	X	X	X	X		X				No
Onotse y Alich. 2016(31)	International Journal of Research in Pharmacy and Biosciences	Eritromicina		X	X			X				No
Dulla et al. 2018(32)	BMC Research Notes	Esomeprazol	X	X	X	X	X	X	X	X		Si
Karmoker et al. 2017(33)	The Pharma Innovation Journal	Glicazida	X	X	X	X		X	X	X		Si
Gupta y Gupta. 2016(34)	WORLD JOURNAL OF PHARMACY AND PHARMACEUTICAL SCIENCES	Ibuprofeno	X	X		X		X	X	X		Si
Matiz-Melo et al. 2017(35)	Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.	Ibuprofeno					X	X	X	X	X	Si
Hasin et al. 2019(36)	European Journal of Pharmaceutical and Medical Research	Ketorolaco	X	X	X	X		X	X			Si
Jannath et al. 2018(37)	Advancements Bioequiv Availab	Ketorolaco	X	X	X	X		X	X			Si
Fretes et al. 2016(38)	Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud.	Lamotrigina		X	X	X			X	X		Si
Gasser et al. 2013(39)	BMC Pharmacology and Toxicology	Levodopa/benserazida				X			X			Si
Hsin-Yun et al. 2016(40)	Diagnostic Microbiology and Infectious Disease	Levofloxacino	X	X	X	X	X	X				No
Adetunji y Odeniyi. 2015(41)	Afr. J. Med. med. Sci.	Loratadina	X	X	X	X	X	X	X			Si
Zakeri-Milani et al. 2012(42)	Journal of Applied Pharmaceutical Science	Metformina							X	X	X	Si
Pérez et al. 2013(43)	Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.	Metformina								X	X	No
Sachan et al. 2016(44)	Scholars Research Library	Metformina	X	X	X	X		X	X		X	Si

Autor	Revista	Principio Activo	Variación de peso	Friabilidad	Dureza	Desintegración	Velocidad de disolución	Dosificación	Perfil de disolución	Valoración	Uniformidad del contenido	Bioequivalencia
Oyetunde et al. 2012(45)	Dissolution Technologies	Metformina y propanolol							X			Si
Kar et al. 2015(46)	International Current Pharmaceutical Journal	Paracetamol	X			X		X				No
Gupta y Gupta. 2016(47)	International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research	Paracetamol	X	X		X		X	X	X		Si
Alva et al. 2013(48)	Revista Farmaciencia	Propanolol								X	X	No
Veronin y Nguyen. 2008(49)	The Annals of Pharmacotherapy	Simvastatina				X		X				No
Mehnaz et al. 2018(50)	The Pharma Innovation Journal	Valsartán	X			X		X				No

Discusión

La bioequivalencia, según la FDA se define como la ausencia de una diferencia significativa en la tasa y el grado en que un ingrediente farmacéutico activo en equivalentes farmacéuticos o alternativas se vuelve disponible en el sitio de acción del medicamento. Los dos medicamentos también deben tener la misma dosis molar en condiciones similares para poder contrastar y admitir la bioequivalencia de los dos. La equivalencia farmacéutica debe demostrar que los dos medicamentos liberan el ingrediente farmacéutico activo en la misma cantidad, la misma velocidad y poseen la misma calidad⁽⁵¹⁾.

Un producto intercambiable es un biosimilar a un producto ya aprobado por la FDA que cumple con estándares adicionales para ser clasificado como tal. La intercambiabilidad se define como la práctica médica de cambiar un producto farmacéutico por otro y no aumenta el riesgo de seguridad ni disminuye la eficacia cuando se cambia del fármaco original, por iniciativa o, con acuerdo, del prescriptor⁽⁵²⁾.

Para garantizar la uniformidad de las unidades de dosificación, cada unidad en un lote debe tener el contenido del fármaco dentro de un intervalo estrecho alrededor de la cantidad declarada.⁽⁷⁾

La prueba de Uniformidad de Contenido para preparaciones que se presentan en unidades de dosificación se basa en la valoración individual del contenido de un fármaco o fármacos en un número de unidades de dosificación para determinar si el contenido individual se encuentra dentro de los límites fijados⁽⁵³⁾. El método de Uniformidad de Contenido se puede aplicar en varios casos. De los 13 artículos que realizaron esta prueba 12^(15,21,22,24,27,28,35,42-44,48) cumplieron y 1⁽⁴⁹⁾ estuvo fuera de la especificación. El no cumplimiento de esta prueba de calidad conduce a establecer que las unidades dosificadas no contienen la misma cantidad de ingrediente farmacéutico activo y como consecuencia a posibles fallos terapéuticos por exceso o defecto de este.

La prueba de variación de peso es buena para hallar la uniformidad de dosis si el contenido del fármaco dentro de las tabletas comprende del 50 -100% del peso de tabletas. La variación de peso se debe a problemas de granulación y problemas mecánicos. El peso de la tableta se determina por la geometría de la matriz y punzones, además de la capacidad de flujo del granulado que puede causar llenados intermitentes de las matrices. El mal mezclado del aglutinante influye también. Si el tamaño del gránulo es muy grande influye negativamente en el llenado de las matrices. Si el granulado tiene un amplio tamaño de distribución de partículas, tendrán localizadas no uniformidades y estratificación (poco mezclado o mucha vibración) en la tolva. Pequeñas diferencias en la longitud del punzón, y suciedad interior puede causar también variación de peso. Cada producto tiene una especificación de peso, según la fórmula y el porcentaje de variación de peso permitido depende precisamente de lo grande o pequeño de este peso. La exactitud en el peso, nos da la exactitud en la dosis para el paciente⁽⁵⁴⁾. Para el ensayo de variación de peso, 21^(10,13,14,16,18-20,23,25,26,29,30,32-34,36,37,40,41,44,46,47,50) de los artículos 24 cumplieron con los parámetros especificados y 3^(31,35,49) artículos no cumplieron con estos parámetros. Si bien algunos de estos artículos evaluados indicaron en este ensayo diferencias significativas en el peso de las tabletas, se debe recalcar que no existe una regla que regule el peso que deben poseer las tabletas, ya que queda a disposición de cada laboratorio estipular el peso del comprimido⁽¹⁴⁾. Si durante la realización de este ensayo se identifican grandes diferencias entre los pesos de las tabletas, dichas diferencias en las formulaciones son propias de cada laboratorio fabricante y las dimensiones físicas de los productos, explicarían estas disimilitudes, sin que esto sea un indicativo de variación en el contenido del principio activo o fallas de desempeño durante el ensayo de disolución⁽¹¹⁾.

Por otra parte, la cuantificación de principio activo nos permite saber si determinada forma farmacéutica tiene la cantidad declarada para poder tener un efecto terapéutico aceptable como también que esta no produzca toxicidad⁽⁵⁵⁾. De los 24^(10,13,14,16,18-20,23,25,26,29-37,40,41,44,46,47,49,50) artículos que evaluaron esta prueba de dosificación todos cumplieron con la especificación.

Una prueba empleada con frecuencia para medir la capacidad de las tabletas para resistir fuerzas mecánicas es la prueba de friabilidad. Durante la prueba de friabilidad se considera aceptable una pérdida de peso máxima de no más del 1% del peso de las tabletas⁽⁸⁾. De 22 artículos que realizaron esta prueba 20^(10,13,14,16,18-20,23,25,26,29,30,31-34,36-38,40,41,44,47) cumplieron con esta especificación y 2^(46,50) no cumplieron. Un

porcentaje de pérdida de peso por encima del valor especificado, podría indicar que las tabletas son menos resistentes al desgaste y a la abrasión durante los procesos de fabricación, distribución y uso⁽¹⁴⁾.

La dureza también influye en la friabilidad y la desintegración, es decir, cuanto menos dura es una tableta, más friable y menos tiempo tarda en desintegrarse⁽⁹⁾. Para este ensayo de los 23 artículos que lo evaluaron 19^(10,13,14,16,18-20,23,25,26,29,30,31-33,36-38,40,41,44) cumplen y 4^(35,46,49,50) no cumplen con la especificación. Los resultados de la oscilación de los valores de dureza pueden ser indicativos de la poca o mayor presencia de aglutinantes en la formulación o de una fuerte o débil compresión por parte de la máquina tableteadora. Si se tiene un valor de dureza elevado se puede dar un retraso en la desintegración de la tableta, y como resultado la liberación tardía del principio activo⁽¹¹⁾.

Una técnica de garantía de calidad importante para evaluar la calidad, biodisponibilidad y eficacia de las tabletas es la prueba de desintegración. Esta prueba sirve para determinar si las tabletas o cápsulas se desintegran dentro del tiempo establecido cuando se las coloca en un medio líquido en las condiciones experimentales⁽¹⁰⁾. De los 25 artículos que realizaron esta prueba 23^(13,14,16,18-20,23,25,26,29,30,32-34,36-41,44,46,47,49,50) cumplieron y 2^(10,31) no cumplieron con la especificación. Uno de los factores que podría influir negativamente sobre la velocidad de desintegración es un valor de dureza elevado, ya que al tener los gránulos que conforman las tabletas más compactados, será más difícil que está se desintegre, causando así tiempos de desintegración elevados que puede llegar a influir en una liberación tardía del principio activo en el tracto gastrointestinal⁽¹⁴⁾.

Una herramienta que permite encontrar diferencias en la formulación, calidad de excipientes, así como en el proceso de manufactura de los sólidos orales, con el fin de controlar la homogeneidad lote a lote, es el perfil de disolución⁽⁵⁾. De los 39 artículos que realizaron esta prueba 23^(10,12,13,16-18,20-23,26,32-39,41,42,44,45,47) cumplieron y 16^(14,15,19,24,25,27-31,40,43,46,48-50) no cumplieron con la especificación; pero cabe recalcar que en un artículo⁽¹⁹⁾ se evaluaron 3 principios activos de los cuales 1 cumplió y 2 no cumplieron con la prueba. En algunos artículos se indica que la disolución de los diferentes productos fue rápida con una liberación de más del 85% de la cantidad etiquetada en 15 a 20 minutos. En estos casos, los cálculos de f1 y f2 se vuelven innecesarios⁽¹⁸⁾.

Conclusiones

La revisión revela que los ensayos de calidad fisicoquímicos descritos en las farmacopeas son insuficientes para asegurar bioequivalencia entre los productos multifuentes (genéricos) y los innovadores, por lo que sugiere acrecentar este tipo de estudios para asegurar equivalencia terapéutica y la correspondiente intercambiabilidad, así como incorporar ensayos de caracterización polimórfica a los cristales de los ingredientes farmacéuticos activos.

Bibliografía

1. Meredith P. Bioequivalence and other unresolved issues in generic drug substitution. *Clin Ther*. 2003;25:2875-90.
2. Delgado C. La patente de medicamentos de uso humano y fabricación industrial como instrumento de protección de la innovación: estudio del acuerdo sobre los ADPIC y la Declaración de Doha. [Pregrado]. Universidad Complutense; 2017.
3. Midhal KK, McKay G. Bioequivalence: its history, practice, and future. *AAPS J*. 2009;11:664-70.
4. King DR, Kanavos P. Encouraging the use of generic medicines: Implications for transition economies. *Croat Med J*. 2002;43:462-9.
5. Lema S. Acceso a los medicamentos: las patentes y los medicamentos genéricos: las consecuencias de considerar al medicamento como un bien de mercado y no social. *Revista de Bioética y Derecho*. 2015;34:81-89.

6. Mendoza G, Cubas W, Mejia C, Chachaima J, Montesinos R, Arce L, Mamani J. Percepción de la población con respecto a medicamentos genéricos frente a los de marca en hospitales del Perú. *Cad Saúde Pública*. 2019; 35(10):1-13
7. Yasmine F, Hebatallah M, Eman S, Hala Z, Khadiga K. Ecofriendly Determinations of Pseudoephedrine HCl and Triprolidine HCl in Their Tablet Form: Evaluation of Dissolution Profile.[Internet]. *ChemistrySelect*. 2019; 4(31):8946-8952.
8. Meredith P. Bioequivalence and other unresolved issues in generic drug substitution. *Clin Ther*. 2003;25:2875-2890.
9. Midhal KK, McKay G. Bioequivalence: its history, practice, and future. *AAPS J*. 2009;11:664-670.
10. Farmacopea de los Estados Unidos de América, Formulario Nacional, USP, USP 42-NF 37, The Pharmacopeial Convention, United Book Press, Baltimore, 2019.
11. Osorio FMR, Mercado CJ, Matiz MGE, et al. Estudio biofarmacéutico comparativo de tabletas de ácido acetilsalicílico disponibles en el mercado colombiano. *Rev Cubana Farm*. 2015;49(4):641-650.
12. Alva Plasencia P, Caballero Aquino O, Cruzado Lescano P, Ganoza Yupanqui M, Castillo Saavedra E, Paredes Ayala A. Comparación De Perfiles De Disolución De Albendazol En Tabletas 200 Mg, Multifuente E Innovador, Comercializadas En Perú. *Rev Farmaciencia*. 2015;3(1):19-24.
13. Franco-Ospina Luis A, Matiz-Melo Germán E, Pájaro-Bolívar Indira B. Estudio biofarmacéutico comparativo de marcas comerciales de tabletas de ciprofloxacino disponibles en el mercado colombiano. *Rev. salud pública [Internet]*. 2012; 14(4):695-709.
14. León MG, Osorio FMR, Matiz MGE. Estudio biofarmacéutico comparativo de tabletas de acetaminofén 500 mg disponibles en el mercado colombiano. *Rev Cubana Farm*. 2015;49(4):630-640.
15. Mayet CL, Jung-Cook H, Mendoza AO, Rodríguez JM. Estudio comparativo de perfiles de disolución de tabletas de albendazol del mercado nacional. *Rev Mex Cienc Farm*. 2008;39(4):4-8.
16. Ashnagar A, Kouchak M, Soltani M, Salimi A. In vitro Evaluation of Some Different Brands of Alprazolam Tablets. *E-J Chem*. 2007;4(4):563-573.
17. Daza Calderón ML. Biodisponibilidad y bioequivalencia in vitro en cápsulas de amoxicilina de 500 mg comercializados en Bolivia. *Rev Cs Farm y Bioq* . 2013 ;1(1):93-104.
18. Al-Tabakha M, Faehelebom K, Obaid D, Sayed S. Quality Attributes and In Vitro Bioequivalence of Different Brands of Amoxicillin Trihydrate Tablets. *Pharmaceutics*. 2017;9(4):18.
19. Grande-Ortiz Miguel, Taípe-Cadenillas Sandra, Villodas-Saldaña Cinthia, Rodríguez-Calzado Javier, Moreno-Exebio Luis. Equivalencia terapéutica evaluada mediante estudios in vitro de medicamentos multifuentes: estudio de casos de amoxicilina, doxiciclina y fluconazol en Lima, Perú. *Rev perú med exp salud publica*. 2019;36(1):74-80. Doi:10.17843/rpmesp.2019.361.3912.
20. Matiz Melo GE, Rodríguez Cavallo E. Estudio comparativo de la calidad biofarmacéutica de marcas comerciales y multifuentes de tabletas de captopril y losartán del mercado colombiano. *Rev colombiense quim farm*. 2014; 43(2): 217-233. Doi:10.15446/rcciquifa.v43n2.54209.
21. González Vidal N, Simionato D, Zubata P, Pizzorno M. Similitud e intercambiabilidad de formulaciones de Cefalexina. *Acta Farmacéutica Bonaerense*. [Internet]. 2006; 25(1):99-103.
22. Cáceres Villalba M, Fretes López S. Comparación de Cefalexina 500mg nacional e importada en Paraguay. *Rev Fac Cienc Salud UDES*. 2017;4(2):85-89.
23. Adegbolagun O, Olalade O, Osumah S. Comparative evaluation of the biopharmaceutical and chemical equivalence of some commercially available brands of ciprofloxacin hydrochloride tablets. *Trop J Pharm Res*. 2007;6(3):737-745.
24. Bredan M, Varillas M, González Vidal N, Pizzorno M. Evaluación de la equivalencia farmacéutica de comprimidos de Ciprofloxacino del mercado argentino. *Acta Farm Bonaer*. 2009; 28(5):768-774.

25. Gracia-Vásquez T, Ma M, Ivonne VY. Evaluación in-vitro de doce marcas de comprimidos de ciprofloxacino que se comercializan en el mercado mexicano. *Rev Mex Cienc Farm.* 2010; 41:43-49.
26. Oishi TH, Haque MA, Dewan I, Islam A. Comparative In Vitro Dissolution Study Of Some Ciprofloxacin Generic Tablets Under Biowaiver Conditions By Rp-Hplc. *Int J Pharm Sci Res.* 2011;2(12):3129-3135.
27. Baishya, H.; Gogoi, B.; Bordoloi, D.; Gogoi, P. In-vitro evaluation of two marketed brands of dexamethasone tablets IP as per Indian pharmacopoeia. *Int. J Pharm Pharm Sci.* 2018; 3(1): 197-201.
28. Herrera-Calderon Oscar, Grande-Ortiz Miguel. Equivalencia terapéutica de tabletas de diazepam dispensadas en la ciudad de Ica, Perú. *Rev Med Hered.* 2012; 23(3):154-159.
29. Al Ragib A, Islam T, Sazib S, Hosain F. Comparative Study On Quality Analysis On Marketed Diclofenac Sodium Tablets Of Different Brands Available In Bangladesh. *Research Journal of Life Sciences, Bioinformatics, Pharmaceutical and Chemical Sciences.* 2018; 4:362-373. Doi: 10.26479/2018.0404.32.
30. Matiz, GE, Trujillo, M, Pérez, D. A, Baena, Y. Evaluación de la intercambiabilidad in vitro de diferentes marcas de tabletas de diclofenaco sódico disponibles en el mercado colombiano. *Biomédica.* 2018; 38(4):486-495. doi.org/10.7705/biomedica.v38i4.3988
31. Onotse OC, Alichia OC. Comparative Invitro Studies of Erythromycin Stearate Tablets Commercially Available in Lagos State, Nigeria. *International Journal of Research in Pharmacy and Biosciences.* 2016;3(1):7-13.
32. Dulla O, Sultana S, Shohag Hosen M. In vitro comparative quality evaluation of different brands of esomeprazole tablets available in selected community pharmacies in Dhaka, Bangladesh. *BMC Res Notes.* 2018;11(1):184. doi:10.1186/s13104-018-3285-x
33. Karmoker J, Rubayia P, Shuvro S, Swarnali I. Comparative in vitro equivalence evaluation of some local Glizalide brands of Bangladesh. *The Pharma Innovation Journal.* 2017;6(3):152 - 157.
34. Gupta MM. Comparative in-vitro pharmaceutical quality control evaluations of different brands of ibuprofen tablets marketed in the trinidad & tobago, west indies. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences.* 2016;5(4):2325-2334. Doi:10.20959/wjpps20164-6571.
35. Matiz-Melo Germán Eduardo, Rodríguez-Cavallo Erika, Osorio María del Rosario. Estudio comparativo de la calidad biofarmacéutica de marcas comerciales y multifuente de tabletas de ibuprofeno en el mercado colombiano. *Rev Colomb Cienc Quim Farm.* 2017; 46(1):48-70.
36. Farzana H, Rahman M, Rahman M, Akter N, Nayeema H. Formulation development of ketorolac tablets compared to innovator formulation and evaluation via in-vitro bio- equivalence study for product interchangeability. *Eur J Pharm Med Res.* 2017;4(10):450-454.
37. Jannath S, Nayeema I, Jahan N, Deepa KN. Comparative Performance Evaluation of Different Brands of Ketorolac Tromethamine (NSAID'S) Generic Tablets. *Advancements in Bioequivalence & Bioavailability.* 2018;1(2):1-5.
38. Fretes de Aquino SL, Vázquez Mesa M, Lugo Rodríguez GB. Evaluación comparativa entre los perfiles de disolución de comprimidos similares de Lamotrigina de 25mg y el fármaco innovador, comercializados en Paraguay. *Mem Inst Investig Cienc Salud.* 2016 ;14(2):53-60.
39. Gasser U, Fischer A, Timmermans J, Arnet I. Pharmaceutical quality of seven generic Levodopa/Benserazide products compared with original Madopar/Prolopa. *BMC Pharmacology and Toxicology.* 2013;14(1).
40. Sun H, Liao H, Sheng M, Tai H, Kuo C, Sheng W. Bioequivalence and in vitro antimicrobial activity between generic and brand-name levofloxacin. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease.* 2016;85(3):347-351.
41. Adetunji OA, Adigun NF, Odeniyi MA. Pharmaceutical equivalent studies of some commercially available brands of Loratadine hydrochloride tablets. *Afr J Med Med Sci.* 2015;44(3):269-276.

- 42.** Zakeri-Milani, Parvin, Saeed Ghanbarzadeh, Mahboob Nemati, Peyman Nayyeri-Maleki and Hadi Valizadeh. In-vitro bioequivalence study of 8 brands of metformin tablets in Iran market. *J Appl Pharm Sci.* 2012;2(8):194-197.
- 43.** Pérez Guzmán M, Orobio Lerma Y, Baena Aristizábal Y. Estudio comparativo de la liberación in vitro de metformina, a partir de dos productos multifuente de liberación inmediata, comercializados en Colombia. *Rev Colomb Cienc Quim Farm.* 2013;42(2):169-189.
- 44.** Sachan AK, Kumar V, Gupta A. Comparative in-vitro evaluation of four different brands of metformin HCl available in Kanpur district, India. *Sch Res J.* 2016;8(5):419-424.
- 45.** Oyetunde O, Tayo F, Akinleye M, Aina B. In Vitro Equivalence Studies of Generic Metformin Hydrochloride Tablets and Propranolol Hydrochloride Tablets Under Biowaiver Conditions in Lagos State, Nigeria. *Dissolution Technologies.* 2012;19(4):51-55.
- 46.** Kar A, Amin M, Hossain M, Mukul M, Rashed M, Ibrahim M. Quality analysis of different marketed brands of paracetamol available in Bangladesh. *Curr Pharm J.* 2015;4(9):432-435.
- 47.** Gupta Madan Mohan, Gupta Madhulika. Comparative pharmaceutical quality control testing of different brands of Paracetamol tablet available in Trinidad & Tobago, West Indies. *Int J Pharm Sci Res.* 2016;7(7):2830-2836.
- 48.** Ruidias-Romero D, Alva-Plasencia P, Quiliche J, Sánchez Y. Bioequivalencia in vitro de tabletas de propranolol 40 mg multifuente e innovador. *Pharmaciencia.* 2013;1(2):28-34.
- 49.** Veronin MA, Nguyen NT. Comparison of simvastatin tablets from the US and international markets obtained via the Internet. *Ann Pharmacother.* 2008;42(5):613-620. doi:10.1345/aph.1K560
- 50.** Mehnaz Ali, Fabiha Faizah Ali, Nazma Akhter Rita and Mohiuddin Ahmed Bhuiyan. Comparative in vitro evaluation of some commercial brands of valsartan tablets marketed in Bangladesh. *J Pharm Innov.* 2018;7(4):1068-1072.
- 51.** Kostag K, Teixeira M, Costa M, De Almeida T, El Seoud O. Assessing cellulose dissolution efficiency in solvent systems based on a robust experimental quantification protocol and enthalpy data. *Holzfor-schung.* 2019; 73(12):1103-1112.
- 52.** Manali D, PrajapataShital B, ButaniaMukesh C, Gohel B. Liquisolid: A promising technique to improve dissolution efficiency and bioavailability of poorly water soluble nimodipine. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2019; 53:1773-2247.
- 53.** Takafumi K, Shuichi A. Integration of In Silico Pharmacokinetic Modeling Approaches Into In Vitro Dissolution Profiles to Predict Bioavailability of a Poorly Soluble Compound. *J Pharm Sci.* 2019; 108(11):3723-3728.
- 54.** Sharonia B, Steven H. Directly compressed rosuvastatin calcium tablets that offer hydrotropic and micellar solubilization for improved dissolution rate and extent of drug release. *Saudi Pharm J.* 2019; 27(5):619-628.
- 55.** Usmangani K, Nishma M, Dimal A, Shah F, Kashyap K. ScienceDirectThin-layer chromatography method for the simultaneous quantification and stability testing of alprazolam and mebeverine intheir combined pharmaceutical dosage form. *J Taibah Univ Sci.* 2017;11: 66-75.

doi: 10.30827/ars.v62i3.16882

Artículos de revisión

Desfinanciación de los condroprotectores: ¿Una laguna terapéutica?

Underfunding of chondroprotectors: A therapeutic gap?

Francisco Javier Ferreira Alfaya¹  0000-0002-6805-0608

¹Farmacéutico en Institución Penitenciaria de Melilla, España

Máster en Atención Farmacéutica (Universidad de Granada)

Máster en Nutrición Humana (Universidad de Granada)

Correspondencia

Francisco Javier Ferreira Alfaya
ferre1605@gmail.com

Received: 22.11.2020

Accepted: 28.03.2021

Published: 21.06.2021

Financiación

Sin financiación

Conflicto de intereses

No hay conflicto de intereses

Resumen

Introducción: El empleo de los condroprotectores se presentó como una estrategia mejor encaminada al tratamiento de la artrosis por su efecto modulador y mayor seguridad. Sin embargo, su empleo es discutido y serán retirados de la financiación por el Sistema Nacional de salud (SNS).

El objetivo fue revisar y comparar los condroprotectores en términos de eficacia (sobre dolor, función y estrechamiento articular), seguridad y rentabilidad en el manejo de la artrosis.

Metodología: Se ha realizado una búsqueda bibliográfica de la literatura. Las bases de datos utilizadas fueron Medline y Scopus. Se revisó guía médica de la ESCEO (European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoarthritis), estudio epidemiológico de la Sociedad Española de Reumatología y fichas técnicas de medicamentos de la Agencia Española del Medicamento.

Resultados: Se identificaron un total de 152 artículos con los algoritmos de búsqueda utilizados y los criterios de inclusión/exclusión aplicados. Después de leer títulos y resúmenes, 79 fueron excluidos porque no adecuarse a la calidad metodológica requerida o tratar otras aplicaciones diferentes a la artrosis. Tras la lectura íntegra del resto de artículos, se seleccionaron 36 artículos que se adaptaban al objetivo de este trabajo.

Conclusiones: Los ensayos clínicos que evaluaron la diacereína y el condroitín sulfato tuvieron diseños muy variables que podrían justificar la variabilidad de los resultados obtenidos. Con la desfinanciación de estos fármacos por el SNS, el ahorro esperado podría revertirse por el empleo de recursos sanitarios más costosos en el futuro dado el enfoque a corto plazo de las terapias permanentes.

Palabras clave: Artrosis; diacereína; glucosamina; condroitina; “costes de medicamentos”.

Abstract

Introduction: The use of chondroprotectives was presented as a better strategy aimed at the treatment of osteoarthritis due to its attributed chondromodulatory effect and greater safety. However, their use is disputed.

The aim of the present work was to review and compare the chondroprotectives in terms of efficacy (on pain, function and joint narrowing), safety and economic profitability in the management of osteoarthritis.

Methodology: A bibliographic search of the literature published has been carried out. The databases used were Medline and Scopus. The medical guide of the ESCEO (European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoarthritis), the epidemiological study of the Spanish Society of Rheumatology and the technical sheets of medicines of the Spanish Agency of Medicines were reviewed.

Results: A total of 152 articles were identified with the search algorithms used and the inclusion/exclusion criteria applied. After having read titles and abstracts, 79 were excluded because they did not conform to the required methodological quality or to treat other applications other than osteoarthritis. After reading the rest of the articles in their entirety, 36 articles were finally selected that were adapted to the objective of this work.

Conclusions: The clinical trials that evaluated diacerein and chondroitin sulfate had highly variable designs that could justify the variability of the results obtained. With the underfunding of these drugs by the SNS, the expected savings could be reversed by the use of more expensive healthcare resources in the future given the short-term focus of permanent therapies.

Keywords: Osteoarthritis; diacerein; glucosamine; chondroitin; drug costs

Puntos clave

- La artrosis es la principal causa de discapacidad, afecta aproximadamente al 10% de la población mundial mayor de 60 años.
- El conjunto de los estudios clínicos que evaluaron la eficacia de los SYSADOA no alcanzó una evidencia unánime y su empleo sigue siendo discutido.
- A diferencia de los AINE y el paracetamol, a los SYSADOA se les atribuye un efecto modificador estructural sobre la articulación, cuyos efectos permanecen tras interrupción del tratamiento.
- Los SYSADOA tratan de dar respuesta cuando el empleo prolongado de paracetamol o AINE no es posible.

Introducción

La artrosis es una enfermedad degenerativa que afecta tanto a las articulaciones como a tejidos circundantes⁽¹⁻⁴⁾ y sus consecuencias clínicas consisten en dolor articular, movimiento restringido con crepitación⁽⁵⁾. Actualmente supone un desafío para el Sistema Nacional de Salud (SNS), pues su carga está aumentando y se espera que esta tendencia continúe con el aumento de la esperanza de vida y el envejecimiento de la población⁽⁶⁾. Es la principal causa de discapacidad del mundo, afectando aproximadamente al 10% de la población mundial mayor de 60 años^(1,2). Según la Sociedad Española de Reumatología (SER), en nuestro país la prevalencia de artrosis en población mayor de 40 años es de 13,83% en rodilla, 15,52% en región lumbar, 10,10% en cervical, 7,73% en manos y 5,13% en cadera⁽⁷⁾.

Las características de la enfermedad y del paciente con artrosis, habitualmente de edad avanzada, polimedicados y con patologías concomitantes, ponen en relieve la necesidad de poder aplicar tratamientos más fácilmente tolerados a largo plazo en fases no agudas de la enfermedad^(2-4,8-12) y que aporten modificaciones estructurales sobre la degeneración del cartílago^(1,4,8,13).

Los principales objetivos de la terapia farmacológica de la artrosis son reducir el dolor, minimizar la discapacidad y por último evitar la cirugía. El manejo tradicional de esta enfermedad se basa en tratamiento de acción rápida que sólo mejoran la tolerancia a la actividad funcional y reducen el dolor temporalmente como los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) o paracetamol^(2,8,14), pero que con frecuencia tienen un desenlace negativo⁽¹⁾ sin efectos que mitiguen la progresión del estrechamiento articular causante de dolor, derrame e incapacidad funcional^(8,15,16).

Los fármacos de acción lenta o SYSADOA (Symptomatic Slow Action Drug for Osteoarthritis) se presentaron como una alternativa encaminada a su manejo a largo plazo, al frenar la pérdida de cartílago ejerciendo un efecto modificador estructural⁽²⁾. Deben su acción condroprotectora a actividades reguladoras sobre el metabolismo del condrocito y antiinflamatorias en la membrana sinovial con efectos protectores en la remodelación de hueso subcondral^(1,8,17,18). La guía clínica de la ESCO (European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis) sitúa a los SYSADOA como tratamientos de primera línea de tratamiento farmacológico en pacientes con artrosis sintomática de rodilla⁽⁹⁾.

El Condroitín Sulfato (CS) es componente principal de la matriz extracelular del cartílago. Participa en la homeostasis del hueso subcondral, con actividad antiinflamatoria sobre el factor NfκB, disminuye la actividad catabólica de los condrocitos por inhibición de las enzimas proteolíticas como la colagenasa, elastasa o fosfolipasa y promueve la síntesis de proteoglicanos y de ácido hialurónico endógeno^(10,19). La diacérina inhibe la degradación del cartílago por diferentes vías, su principal acción farmacológica es la inhibición de la producción de interleuquina-1, estrechamente relacionada con la actividad colagenolítica^(2,5,8,20), también participa en la inhibición de enzimas colagenasa y estromelina⁽¹⁷⁾. Estudios *in vitro* de células con condrocitos, sinoviocitos y células de hueso subcondral la glucosamina y el CS exhibieron su capacidad para aumentar la síntesis de colágeno y reducir la síntesis de mediadores proinflamatorios y proteasas, mejorando el equilibrio anabólico/catabólico en la matriz del cartílago extracelular⁽²¹⁾.

Debido a la disparidad obtenida en los resultados de los estudios clínicos que evaluaron este grupo, su empleo en el manejo de la artrosis es discutido y se ha decidido su exclusión de la financiación por el SNS. El objetivo de este trabajo es revisar y comparar los SYSADOA en términos de eficacia (sobre el dolor, capacidad funcional y estrechamiento articular), seguridad y rentabilidad.

Métodos

Se realizó una búsqueda bibliográfica en paralelo de la literatura publicada entre el 2 y el 23 de noviembre de 2020. Las bases de datos consultadas fueron Scopus y Medline a través de Pubmed. En la estrategia de búsqueda se emplearon las siguientes palabras clave: “osteoarthritis”, “diacerein”, “chondroitin”, “glucosamine” y “drug costs” en títulos y resúmenes. Se incluyeron metanálisis y ensayos clínicos, se aplicaron criterios de inclusión que garantizaran una adecuada calidad metodológica: estudios aleatorizados, tamaño de muestra no inferior a 50, declaración explícita del sistema de asignación al azar, definidos como doble ciego, que investigaron CS, diacereína o la glucosamina con documentación de las pérdidas de seguimientos o abandonos, con una duración mínima de los ensayos de 6 meses al tratarse de fármacos moduladores de acción lenta y que incluyeran como resultados coprimarios medidas para el dolor, función o pruebas radiológicas. Fueron excluidos los estudios que trataban sobre experimentación animal y no se aplicaron restricciones por idioma o fecha de publicación. También se revisó la guía clínica de la ESCEO y la SER, la Agencia Europea del Medicamento (EMA) y la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS).

Resultados

Eficacia

Diacereína

Se detectaron tres metanálisis que valoraron la eficacia de la diacereína en el manejo de la artrosis. Rintelen et al.⁽¹¹⁾ concluyeron que la diacereína fue superior al placebo e igualmente eficaz que los AINE durante el tratamiento, pero los beneficios obtenidos con el SYSADOA permanecieron hasta 3 meses después de la última dosis. En contraste, Fidelix et al.⁽¹²⁾ otorgaron una evidencia baja-moderada para la diacereína respecto al placebo, con efectos sobre la capacidad funcional no significativos estimados mediante Índice de Lequesne (IL) ($p > 0,01$) y mínimos en la reducción de dolor medidos con Escala Visual Analógica (EVA) (0-100 mm con resultado medio de -5,16 mm a favor de la diacereína). Respecto a su efecto sobre el estrechamiento articular se obtuvieron resultados cuestionables únicamente vinculados a la articulación de la cadera. Se destacó que la mayoría de los Ensayos Clínicos Aleatorizados (ECAs) contenidos tuvieron calidad baja, fueron incompletos y con riesgos de sesgo en el 80% de los estudios, que además fueron muy heterogéneos ($I^2=84$). Por ejemplo, los estudios con mayor número de participantes detectaron una respuesta más leve para la diacereína respecto al placebo en reducción de dolor y sin efectos positivos para la función. Mientras Bartels et al.⁽⁵⁾, destacó un elevado índice de inconsistencia ($I^2=56\%$) respecto a reducción de dolor. La eficacia se calculó con la diferencia de medias estandarizadas de Hedges resultando favorable a la diacereína en dolor ($p=0,003$) y para la función ($p=0,01$), pero pudo relacionarse con la heterogeneidad de los ECAs estudiados.

Nguyen et al.⁽¹⁵⁾ llevaron a cabo un ensayo clínico que comparó la diacereína con AINE (tenoxicam) tanto en monoterapia como en administración conjunta en pacientes con artrosis de cadera. El AINE y el SYSADOA mostraron superioridad respecto al placebo, con eficacia equiparable, tanto para el dolor (EVA) como en capacidad funcional (LI) y no se observó sinergia ni interacción cuando ambos fármacos se administraron de forma concomitante.

Zheng et al.⁽²²⁾ compararon la diacereína con diclofenaco en pacientes con artrosis de rodilla durante 17 semanas. En ambos grupos se observó mejoría en medidas de resultado primarias: escala EVA y magnitud de dolor al caminar 20 metros. En cambio, en el grupo del AINE empeoraron los resultados en sensibilidad a la palpación, subescalas de WOMAC, cuestionario de calidad de vida SF-36 y dolor tras

caminar 20 metros al interrumpir el tratamiento 4 semanas. Se evidenció que la diacereína puede ser tan eficaz como el AINE, con la ventaja de permanecer sus efectos tras retirar el SYSADOA.

Louthrenoo et al.⁽²³⁾ también compararon la eficacia de la diacereína respecto a AINE (piroxicam). En 16 semanas de tratamiento, el dolor disminuyó de modo similar en ambos grupos. Sin embargo, tras un periodo de observación sin tratamiento de 8 semanas, 21 pacientes abandonaron el estudio, pues al suspender el tratamiento el dolor aumento de forma considerable en el grupo del AINE mientras que la mejoría clínica, medida en la subescala de WOMAC para el dolor persistió en el grupo tratado con diacereína.

Singh et al.⁽²⁴⁾ dividieron al azar participantes con artrosis de rodilla para recibir 3 meses diclofenaco con diacereína o diclofenaco con placebo. Tras una primera semana sin tratamiento, el periodo de seguimiento se prolongó un mes para estudiar el efecto residual de la diacereína. Se mostró un efecto sinérgico del SYSADOA con el AINE tanto en dolor (EVA) como en la función articular (subescala WOMAC) respecto al diclofenaco en monoterapia junto con la permanencia de los efectos que caracteriza a los SYADOAs.

Respecto a su efecto modificador estructural, el estudio ECHODIAH^(25,26) evaluó la capacidad de la diacereína para retrasar el estrechamiento del espacio articular en pacientes con artrosis de cadera cuantificado mediante radiografías anuales. La tasa de estrechamiento en el espacio articular fue significativamente menor en el grupo tratado con diacereína (0,19 mm/año) respecto al placebo (0,23 mm/año) ($p=0,042$). Además, el porcentaje de pacientes con una pérdida severa del espacio articular (de al menos 0,5 mm) fue significativamente menor con el SYSADOA ($p=0,007$) pero no se acompañó de mejoría clínica para el dolor (EVA) ni la funcionalidad de la articulación (IL)⁽²⁵⁾. Por otra parte, un estudio *post hoc* tuvo en cuenta el consumo de analgésicos siendo mayor en el grupo tratado con placebo⁽²⁷⁾.

Pham et al.⁽²⁸⁾ compararon la eficacia del ácido hialurónico (AH), la diacereína y el placebo en tratamiento de artrosis de rodilla durante 1 año. Los pacientes fueron aleatorizados en 3 grupos: Inyecciones intraarticulares de AH y placebo oral, inyecciones intraarticulares de solución salina y diacereína o inyecciones intraarticulares de solución salina y placebo oral. Como resultado, se experimentó una mejoría clínica relevante similar en todos los grupos para el dolor mediante EVA y función (Índice Kellgren and Lawrence (KL)) y las evoluciones en espacio articular de la rodilla tampoco fueron significativamente diferentes en los tres grupos, siendo el porcentaje de pacientes con una progresión media superior a 0,5 mm 17,7%, 18,9% y 20,3% ($p=0,90$), en los grupos de AH, diacereína y placebo respectivamente.

El efecto de la diacereína sobre el estrechamiento articular sólo ha podido ser demostrado en la artrosis de cadera por el estudio ECHODIAH y Pham et. al, y en ambos casos su trascendencia clínica ha sido cuestionable, con una modesta correlación entre el efecto modificador estructural detectado y el dolor o desenlaces en cirugías de reemplazo articular⁽¹⁾.

En 3 ensayos contenidos en este trabajo (Pham, ECHODIAH y Shin) la diacereína no tuvo mayor reducción de dolor respecto al placebo, estimado en EVA, desde el punto de partida, en cambio, en otros 3 (Nguyen, Pavelka y Singh) la diacereína mejoró los resultados para el dolor (EVA) respecto al placebo. Por otro lado, exhibió resultados equiparables a AINE en estudios de no inferioridad (Louthrenoo, Zheng y Nguyen), para piroxicam, diclofenaco y tenoxicam respectivamente. Además, (Pavelka, Zheng, Louthrenoo y Singh) coincidieron en la permanencia de los beneficios clínicos obtenidos hasta 3 meses después de la última toma de diacereína.

Combinación de Glucosamina y CS

Hochberg et al.⁽²⁹⁾ observaron en el estudio MOVES una eficacia comparable entre el celecoxib y la combinación de glucosamina y CS para el dolor, rigidez y limitación funcional en pacientes con artrosis dolorosa de rodilla. La disminución de dolor, estimada mediante subescala de WOMAC, fue de 50,1% en el grupo de los SYSADOAs y del 50,2% en el grupo del celecoxib ($p=0,92$). Además, en ambos grupos se obtuvieron resultados equiparables en resultados secundarios (medicación de rescate, subescalas de función y de rigidez o EVA).

Dos metanálisis recientes coincidieron en los efectos positivos de la glucosamina y el CS: Simental-Mendía et al.⁽³⁰⁾ hallaron una reducción significativa en el dolor estimado mediante EVA para el CS y de la glucosamina respecto al placebo en pacientes con artrosis de rodilla, de ($p < 0,00001$) y ($p = 0,04$) respectivamente, sin efecto adicional con la combinación de ambos ($p = 0,95$). Por otro lado, Zhu et al.⁽³¹⁾ concluyeron que el CS mejoró los síntomas relacionados con el dolor y la función, en cambio, la glucosamina únicamente mostró un beneficio significativo respecto a la rigidez en comparación con el placebo.

No obstante, Wandel et al.⁽³²⁾ evaluaron el CS y la glucosamina para la reducción de dolor y evolución del ancho mínimo en espacio articular en artrosis de cadera o rodilla en un metanálisis de 10 ECAs con un mínimo 200 pacientes como criterio de inclusión y un total de 3803. En EVA de 10 cm, la diferencia media de la intensidad de dolor comparada con placebo fue de -0,3 cm para el CS, -0,4 cm para la glucosamina y de -0,5 cm para la combinación de ambos. Las diferencias sobre el ancho mínimo del espacio articular fueron mínimas. Según este estudio, los SYSADOA no mostraron ser eficaces en reducción de dolor ni mostraron efecto sobre el estrechamiento del espacio articular.

CS

El estudio MOSAIC⁽³³⁾ mostró mediante Resonancia Magnética Nuclear (RMN) la capacidad modificadora estructural del CS frente a celecoxib frenando la pérdida de volumen del cartílago a largo plazo. Se obtuvieron diferencias significativas con el grupo de celecoxib tras los 24 meses en el compartimento ($p = 0,018$) y cóndilo medial ($p = 0,008$) para el grupo tratado con CS y ambos grupos experimentaron mejoría clínica cuantificada en escala de WOMAC (Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis).

Raynauld et al.⁽³⁴⁾ investigaron qué regiones de interés de la curvatura ósea basal estaban mejor asociadas con la reducción de la pérdida de volumen del cartílago y comprobaron si su evolución a los 2 años estaban correlacionados con el efecto condroprotector del CS, para ello se realizaron mediciones basales y a los 2 años mediante RMN para evaluar la curvatura ósea. En pacientes con hueso más aplastado el CS demostró efecto protector del cartílago en comparación con celecoxib en el compartimento medial ($p = 0,037$), el cóndilo y la meseta central ($P \leq 0,030$).

El estudio CONCEPT⁽³⁵⁾ ratificó con los resultados derivados de estudio MOSAIC respecto a las propiedades condroprotectoras del CS, siendo superior a placebo y equiparable a celecoxib en valoraciones de función (LI) y dolor (EVA) en manejo de artrosis de rodilla. Además, fue el primer ensayo que siguió las recomendaciones de la EMA en un intento de estandarizar protocolos⁽³⁶⁾ incorporando un grupo placebo y un grupo control tratado con celecoxib como requerimiento de validez externa, ante la inconsistencia de estudios previos. Tanto CS como celecoxib mostraron una mejoría significativa en EVA ($p = 0,001$ para CS y $p = 0,009$ para celecoxib) y LI ($p = 0,023$ para CS y $p = 0,015$ para celecoxib) respecto al placebo a los 6 meses.

Morita et al.⁽¹⁹⁾ realizaron un estudio clínico de comparación de dosis de CS en pacientes con artrosis de rodilla con grado de dolor de 2-3 en la puntuación (KL). Los pacientes fueron asignados al azar para recibir 260 mg/día o 1560 mg/día y la función (LI) y dolor (EVA) fueron comparadas cada 3 meses. El grupo de dosis elevada obtuvo mejores resultados en la reducción de dolor, especialmente en aquellos pacientes con mayor puntuación KL al inicio, pero no se encontraron diferencias significativas en la función articular. Sin embargo, el reducido número de pacientes fue una limitación importante.

Glucosamina

Reginster et al.⁽¹⁴⁾ evaluaron en un ECA controlado con placebo de 212 pacientes con artrosis de rodilla los efectos a largo plazo de 1500 mg/día de sulfato de glucosamina. Se midieron el ancho medio del espacio articular en compartimento medial de la articulación tibiofemoral y el ancho mínimo del espacio articular mediante radiografías en el inicio del estudio, en el primer y en el tercer año, también se valoró la evolución clínica mediante escalas de WOMAC. Como resultado, los pacientes que recibieron el placebo tuvieron un estrechamiento medio de 0,31 mm, mientras en el grupo tratado con glucosamina no se apreció una pérdida media significativa en el espacio articular siendo solo de 0,06 mm

($p=0,038$). Respecto a las puntuaciones de WOMAC, reflejaron un ligero empeoramiento de los síntomas en el grupo tratado con placebo en comparación al de la glucosamina.

Pavelka et al.⁽³⁷⁾ corroboraron el efecto modificador estructural de la glucosamina en pacientes con artrosis de rodilla en otro ECA controlado con placebo, siendo la principal medida de resultado el espacio intraarticular en compartimento medial tibiofemoral, cuantificado mediante imagen radiológica. Al finalizar el estudio, el grupo placebo experimentó un estrechamiento articular medio de 0,19 mm, en cambio, en el grupo tratado con glucosamina sólo fue de 0,04 tras 3 años de seguimiento, obteniendo una diferencia significativa entre ambos grupos ($p=0,001$). Además, menos pacientes tratados con SYSADOA experimentaron estrechamientos superiores a 5 mm: 5% respecto a 14% en grupo placebo ($p=0,05$).

Los diseños de los ensayos han diferido mucho entre sí: criterios de inclusión/exclusión, medidas de resultado, duración de estudio y calidad del producto^(3,5,35). Entre los ECAs que compararon SYSADOA con AINE (Zheng, Louthrenoo, MOSAIC, Nguyen, CONCEPT y MOVES), sólo los tres últimos incluyeron grupo placebo, siendo una debilidad destacable en mencionados estudios.

A excepción de los estudios (ECHODIAH, Pavelka et al. y Reginster et al.) de 3 años, MOSAIC- Raynauld et al. de 2 años y el realizado por Pham et al de 1 año, los ECAs fueron de corta duración, especialmente para fármacos de acción lenta, y en muchos de ellos el tamaño de muestra fue pequeño^(1,2,5,19) y sólo de Shin et al. estudiaron la eficacia sobre artrosis de la mano⁽²⁰⁾.

El predominio de medidas de resultado subjetivas han supuesto una debilidad en los ECAs que evaluaron los SYSADOAs⁽²⁾, se han puesto en marcha estrategias para objetivar respuesta: Monfort et al.⁽³⁸⁾ aplicaron resonancia magnética funcional para estudiar los efectos de CS sobre la respuesta cerebral ante la estimulación dolorosa en pacientes con artrosis de rodilla y demostrando resultados consistentes para la regeneración de condrocitos inducida por el SYSADOA, variaciones en curvatura ósea con RMN⁽³⁴⁾ o cuantificación marcadores en suero, como la leptina o la adiposina, relacionados con la actividad colagenolítica⁽¹³⁾. Por último, en el CS y la glucosamina, existen diferencias notables en la calidad del producto derivadas de su origen y procesado, al tratarse de productos de origen animal, ensayos que contaron presentaciones de calidad nutracéutica, con diferente concentración y pureza⁽³⁹⁻⁴¹⁾, pero que fueron incorporados a revisiones sistemáticas y metanálisis contribuyeron a la falta de confianza depositada en ellos.

Tabla 1. Resumen de ECAs detectados en la búsqueda que evaluaron la eficacia del empleo de SYSADOAs en el manejo de la artrosis.

Referencia, año	Tipo de estudio	Muestra	Duración	SYSADOA	Control	Medidas de resultado 1º	Conclusiones
ECAs que estudiaron el CS							
MOSAIC, 2016 ⁽³³⁾	Multicéntrico, aleatorizado, doble ciego, doble simulación	194	24 meses	CS	Celecoxib	Pérdida de volumen de cartílago en cóndilo femoral y meseta tibial de rodilla (RMN).	Modificación estructural en cóndilo medial con CS. Efectos equiparables para dolor y función entre SYSADOA y AINE.
CONCEPT, 2017 ⁽³⁵⁾	Multicéntrico, aleatorizado, doble ciego	604	6 meses	CS	Celecoxib Placebo	EVA IL	CS superior al placebo y similar a celecoxib en artrosis de rodilla.

Referencia, año	Tipo de estudio	Muestra	Duración	SYSADOA	Control	Medidas de resultado 1°	Conclusiones
Raynauld et al., 2017 ⁽³⁴⁾	Aleatorizado, doble ciego, doble simulación	120	24 meses	CS	Celecoxib	Pérdida de volumen de cartílago en cóndilo femoral y meseta tibial de rodilla (RMN).	Mediciones en curvatura ósea se correlacionaron con el efecto protector de CS.
Morita et al., 2018 ⁽¹⁹⁾	Multicéntrico, aleatorizado, doble ciego	73	12 meses	CS (dosis alta)	CS (dosis baja)	EVA IL	CS fue útil en reducción de dolor en pacientes elevados índices de dolor al inicio del estudio.
ECAs que estudiaron la diacereína							
Nguyen et al., 1994 ⁽¹⁵⁾	Aleatorizado, doble ciego	288	2 meses	Diacereína	Tenoxicam Placebo	EVA IL	AINE y SYSADOA con eficacia equiparable y superiores al placebo.
ECHODIAH, 2001 ^(25,26)	Prospectivo, multicéntrico, aleatorizado, doble ciego	507	3 años	Diacereína	Placebo	Ancho mínimo en espacio articular de la cadera	Diacereína a largo plazo ralentiza el estrechamiento articular de cadera por artrosis.
Zheng et al., 2006 ⁽²²⁾	Aleatorizado, doble ciego	223	1 semana sin tratamiento + 3 meses con tratamiento + 1 mes sin tratamiento	Diacereína	Diclofenaco	EVA Dolor al caminar 20 m	SYSADOA tan eficaz como el AINE. Además, la diacereína exhibió la permanencia de sus efectos tras 4 semanas sin tratamiento.
Louthrenoo et al., 2007 ⁽²³⁾	Aleatorizado, doble ciego	171	1 semana sin tratamiento + 4 meses con tratamiento + 2 meses sin tratamiento	Diacereína	Piroxicam	Subescala WOMAC (dolor)	AINE y SYSADOA igualmente eficaces durante administración, la diacereína mostró permanencia tras 8 semanas sin tratamiento.
Singh et al., 2012 ⁽²⁴⁾	Aleatorizado, prospectivo, doble ciego	84	1 semana sin tratamiento + 3 meses con tratamiento	Diacereína	Placebo	EVA	Efecto sinérgico de administración conjunta de AINE + SYSADOA. Efecto permanente tras interrumpir diacereína.

Referencia, año	Tipo de estudio	Muestra	Duración	SYSADOA	Control	Medidas de resultado 1º	Conclusiones
Pham et al., 2004 ⁽²⁸⁾	Prospectivo, multicéntrico, aleatorizado, doble ciego	301	12 meses	Diacereína	Ácido Hialurónico Placebo	Ancho mínimo en espacio articular de la rodilla.	No hubo diferencias significativas en los 3 grupos para dolor (EVA) función (KL) o estructural.
Pavelka et al., 2016 ⁽⁸⁾	Multicéntrico, aleatorizado, doble ciego	168	1 semana sin tratamiento + 3 meses de tratamiento + 3 meses sin tratamiento	Diacereína	Placebo	Dolor (WOMAC) 2 meses tras interrumpir tratamiento.	Efecto significativamente beneficioso de la diacereína permanente 2 meses después de finalizar tratamiento.
Shin et al., 2013 ⁽²⁰⁾	Aleatorizado, doble ciego	86	3 meses	Diacereína	Placebo	Puntuación AUSCAN (dolor) en primer mes	La diacereína resultó ineficaz para tratar los síntomas de artrosis de mano.
ECAs que estudiaron la glucosamina							
Pavelka et al., 2002 ⁽³⁷⁾	Aleatorizado, doble ciego	202	3 años	Glucosamina	Placebo	Estrechamiento en espacio articular tibiofemoral en rodilla	La glucosamina retrasa el estrechamiento articular de la rodilla.
Reginster et al., 2001 ⁽¹⁴⁾	Aleatorizado, doble ciego	212	3 años	Glucosamina	Placebo	Ancho medio de espacio intraarticular de compartimento medial tibiofemoral	No hubo pérdida significativa en espacio intraarticular en el grupo tratado con glucosamina
ECAs que estudiaron la combinación de CS y glucosamina							
MOVES., 2017 ⁽²⁹⁾	Multicéntrico, aleatorizado, doble ciego	606	6 meses	Glucosamina + CS	Celecoxib	Subescala de WOMAC para el dolor	Eficacia y seguridad equiparable entre el celecoxib y SYSADOAs en artrosis de rodilla

ECAs: Ensayos Clínicos Aleatorizados; CS: Condroitin sulfato; RMN: Resonancia Magnética Nuclear; EVA: Escala Visual Analógica; IL: Índice de Lequesne; WOMAC: Western Ontario y McMaster; AUSCAN: Australian Canadian Osteoarthritis Hand Index; KL: Índice de Kellgren y Lawrence; AINE: Antiinflamatorio no Esteroideo; SYSADOA: Symptomatic Slow Acting Drug for Osteoarthritis

La glucosamina, el condroitín sulfato y la diacereína han demostrado capacidad para frenar la pérdida de volumen de cartílago articular y^(4,8,9,33,34), reducir el dolor y la rigidez e incrementar la capacidad funcional^(4,9,15,22,23,27,33,42). Se caracterizan por un lento inicio de su acción (tras 4-6 semanas de tratamiento) para conseguir un efecto equiparable a los AINE^(2,33,42) y por la permanencia de sus efectos meses después de la interrupción del tratamiento^(2-4,8,15,19,22-24,27,34).

Seguridad

La seguridad farmacológica adquiere especial interés, debido al carácter crónico de la artrosis y al grupo de edad al que sus tratamientos van destinados: frecuentemente de edad avanzada, pluripatológicos y cuyos tratamientos también podrían suponer interacciones. Cobra interés el empleo de tratamientos más fácilmente tolerados a largo plazo en fases no agudas de la enfermedad^(2-4,8-12) y que aporten modificaciones estructurales sobre la degeneración del cartílago con menor dependencia del consumo de AINE^(1,4,8,13).

A pesar de las controversias respecto a su eficacia, el CS se emplea ampliamente en muchos países, tanto en presentaciones de prescripción médica como de indicación farmacéutica. Destaca por no presentar diferencias en términos de seguridad respecto al placebo en ECAs⁽⁴⁾. La combinación de cierta eficacia con el bajo riesgo de efectos adversos ha contribuido a su popularidad como suplemento de venta libre⁽³⁾. Los trastornos gastrointestinales tienen una incidencia aproximada de 1 por cada 10.000 pacientes mientras que las reacciones alérgicas se consideran muy raras⁽¹⁰⁾. Incluso, Morita et al.⁽¹⁹⁾ emplearon dosis elevadas de CS (1560 mg/día) sin detectar efectos adversos graves.

Honvo G. et al en un metanálisis de ECAs controlados con placebo publicado en 2019 no identificaron ningún problema de seguridad respecto al CS, en cambio, la diacereína si fue asociada con un aumento de efectos adversos en sistemas gastrointestinal (62,8%), renal y urinario (17%) respecto al placebo⁽⁴⁾. Según la AEMPS, aproximadamente un 6% de los pacientes abandonan el tratamiento con diacereína debido a efectos adversos, entre los cuales la diarrea y el dolor abdominal se consideran muy frecuentes⁽¹⁷⁾. En un meta-análisis que incluyó 1083 pacientes tratados con diacereína, la incidencia de diarrea moderada-leve fue del 42% tras las dos primeras semanas de tratamiento⁽²⁷⁾.

El Comité de Evaluación de Riesgos de Farmacovigilancia (PRAC) de la EMA en 2013 recomendó la suspensión de la diacereína debido al riesgo de diarrea grave, pues se absorbe de forma incompleta en el tracto intestinal superior⁽⁴⁾. Finalmente se reexaminó en 2014 y se restringió para la artrosis de cadera o rodilla en pacientes sin historial de afección hepática^(2,12), pues la elevación de enzimas hepáticas junto con casos graves de daño hepático en pacientes que se trataron con diacereína sugirieron posible relación⁽⁴³⁾. Posteriormente, según un informe de la ESCEO de 2016, basándose en estudios preclínicos sobre toxicología animal con diacereína mostró que el hígado no era un órgano diana para su toxicidad, considerando una tolerabilidad razonable para este fármaco. Por otro lado, la diarrea asociada a la diacereína es frecuente a largo plazo⁽²⁾, pudiendo causar deshidratación e hipopotasemia, siendo necesarias alternativas al tratamiento^(15,17). Por ejemplo, en el estudio ECHODIAH experimentaron diarrea el 46% de los pacientes en el grupo de la diacereína y el 12 % en el grupo de placebo ($p=0,001$), el porcentaje de pacientes con limitaciones en adherencia por diarrea severa fue del 12% respecto al 2% del grupo placebo⁽²⁵⁾.

En el metanálisis realizado por Rintelen et al. no se observaron diferencias cuantitativas de tolerabilidad entre la diacereína y los AINE, sin embargo, estos últimos presentaron efectos adversos de gravedad mayor⁽¹¹⁾. En el ensayo clínico realizado por Zheng et al. con 233 pacientes la incidencia de efectos adversos fue de 35,7% en el grupo tratado con diacereína por 45,1% en el grupo tratado con AINE (diclofenaco), los trastornos gastrointestinales leves-moderados fueron los más frecuentes en ambos grupos⁽²²⁾.

No obstante, el empleo de la diacereína debe ponerse en un contexto en el que el empleo prolongado de paracetamol y AINE son potencialmente predisponentes a daño hepático severo, efectos cardiovasculares, renales o reacciones cutáneas. En comparación, el riesgo de fallo hepático por el empleo extensivo de diacereína es de 1.68 por 10 del paracetamol por cada 100.000 pacientes al año⁽⁸⁾.

La utilidad de la diacereína debe considerarse teniendo en cuenta su perfil beneficio-riesgo dependiendo de las características individuales del paciente, siendo alternativa en pacientes intolerantes a AINE⁽⁸⁾, con elevado riesgo de hemorragia gastrointestinal, comorbilidades cardiovasculares o cuando el paracetamol resulta ser ineficaz^(4,5). La ESCEO no recomienda iniciar tratamiento en mayores de 65 años⁽⁸⁾, mientras la AEMPS basándose en los informes de la PRAC recomiendan no instaurar nuevos tratamientos basados en la diacereína⁽⁴³⁾.

Las reacciones adversas notificadas asociadas a la glucosamina generalmente son leves y transitorias a niveles digestivo y cutáneo⁽¹⁶⁾. En combinación, en el estudio MOVES se halló un perfil de seguridad similar al celecoxib cuando se combinó con CS. Mientras Reginster et al. ni Pavelka et al. en sus dos estudios de 3 años con glucosamina, no encontraron diferencias en la seguridad respecto al placebo^(14,37). Zhu et al.⁽³¹⁾ en su metanálisis tampoco observaron diferencias significativas en la incidencia de efectos adversos para el CS y la glucosamina respecto al placebo.

Rentabilidad

Diversos estudios muestran el potencial de los SYSADOA para reducir el dolor, la rigidez y retrasar la cirugía^(1,4,9,25,33,35), necesitando una menor dependencia de los recursos sanitarios en forma de visitas médicas u hospitalización^(9,11,44).

Un estudio observacional transversal de 199 farmacias francesas seleccionadas al azar estableció una relación entre el consumo de AINE y la duración del tratamiento con CS, siendo más notable la reducción de consumo de AINE en pacientes con un empleo de CS más prolongado⁽⁴⁵⁾. En esta línea, Rubio-Terrés et al.⁽⁴⁴⁾ realizaron un estudio prospectivo de 6 meses que contó con 530 pacientes con artrosis tratados con AINE o CS para evaluar la rentabilidad ambas herramientas. Se concluyó que la prescripción de CS tendría un notable impacto presupuestario para el SNS, acompañado de una reducción del consumo de AINE, en monoterapia o combinada con CS, el coste semestral por paciente con CS fue de 141 € por los 182 € en el grupo tratado con AINE. Como resultado, se proyectó un ahorro de más de 38,7 millones de euros en 6 meses. En la valoración de este estudio deben tenerse en cuenta limitaciones como la asunción de igualdad de eficacia de los tratamientos comparados o la corta duración para evaluar un fármaco de acción lenta.

Rintelen et al. en su metanálisis observaron que la persistencia del efecto de la diacereína hasta 3 meses después del tratamiento suponía un notable ahorro en analgésicos durante el periodo de seguimiento⁽¹¹⁾, su mejor tolerabilidad también se relaciona con menor consumo de gastroprotectores⁽²⁾.

Respecto a la glucosamina, Bruyere et al.⁽⁴¹⁾ señalaron que el empleo de 1500 mg diarios podría reducir a largo plazo la necesidad de analgesia adicional y AINE, estimando un ahorro del 50% de los costes asociados a medicamentos a partir de los 12 meses de tratamiento y una menor necesidad de cirugías de reemplazo.

En cambio, Wandel et al.⁽³²⁾ en su metanálisis concluyeron que, basándose en la experiencia obtenida, las autoridades sanitarias deberían desalentar nuevas prescripciones de SYSADOA para artrosis de cadera o rodilla y dejar de cubrir el coste de los mismos.

Conclusiones

Es necesario homogeneizar protocolos en los futuros ECAs para verificar la eficacia de los SYSADOA en la progresión de la degeneración articular ante la escasa reproducibilidad de resultados obtenidos, que podría explicarse, al menos en parte, a la importante variabilidad metodológica.

El manejo de la artrosis financiado pasa a ser exclusivamente sintomático, sin mejoras sobre la pérdida de volumen de cartílago con el daño estructural subyacente. La ausencia de beneficios a largo plazo es una limitación de las terapias permanentes que además no ha demostrado ser tan seguros como el CS. Por tanto, el ahorro económico esperado para el SNS tras la retirada de los SYSADOA podría verse neutralizado en próximos años por mayor dependencia de recursos sanitarios como visitas médicas, hospitalizaciones y finalmente cirugía o mayor consumo de analgésicos.

La desfinanciación de SYSADOA limita el empleo de alternativas cuando el empleo de AINE o paracetamol no es posible, dejando sin cobertura a determinados pacientes.

Agradecimientos

No hay agradecimientos

Bibliografía

1. Fidelix TSA, Macedo CR, Maxwell LJ, Fernandes Moça Trevisani V. Diacerein for osteoarthritis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014 10;(2):CD005117. DOI: 10.1002/14651858.CD005117.pub3
2. Panova E, Jones G. Benefit-risk assessment of diacerein in the treatment of osteoarthritis. *Drug Saf.* 2015; 38(3):245–52. DOI: 10.1007/s40264-015-0266-z
3. Singh JA, Noorbaloochi S, MacDonald R, Maxwell LJ. Chondroitin for osteoarthritis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015; 28;1:CD005614. DOI: 10.1002/14651858.CD005614.pub2
4. Honvo G, Reginster J-Y, Rabenda V, Geerinck A, Mkinsi O, Charles A, et al. Safety of Symptomatic Slow-Acting Drugs for Osteoarthritis: Outcomes of a Systematic Review and Meta-Analysis. *Drugs Aging.* 2019;36(Suppl 1):65–99. DOI: 10.1007/s40266-019-00662-z
5. Bartels EM, Bliddal H, Schøndorff PK, Altman RD, Zhang W, Christensen R. Symptomatic efficacy and safety of diacerein in the treatment of osteoarthritis: a meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. *Osteoarthritis Cartilage.* 2010; 18(3):289–96. DOI: 10.1016/j.joca.2009.10.006
6. Safiri S, Kolahi A-A, Smith E, Hill C, Bettampadi D, Mansournia MA, et al. Global, regional and national burden of osteoarthritis 1990–2017: a systematic analysis of the Global Burden of Disease Study 2017. *Ann Rheum Dis.* 2020;79(6):819–28. DOI: 10.1136/annrheumdis-2019-216515
7. Sociedad Española de Reumatología. Prevalencia de Enfermedades Reumáticas en Población Española. Estudio EPISER [Internet]. 2016. Available from: <https://www.ser.es/se-ha-presentado-el-estudio-episer-2016-en-la-sede-del-ministerio-de-sanidad-consumo-y-bienestar-social/>
8. Pavelka K, Bruyère O, Cooper C, Kanis JA, Leeb BF, Maheu E, et al. Diacerein: Benefits, Risks and Place in the Management of Osteoarthritis. An Opinion-Based Report from the ESCEO. *Drugs Aging.* 2016; 33(2):75–85. DOI: 10.1007/s40266-016-0347-4.
9. Bruyère O, Honvo G, Veronese N, Arden NK, Branco J, Curtis EM, et al. An updated algorithm recommendation for the management of knee osteoarthritis from the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis, Osteoarthritis and Musculoskeletal Diseases (ESCEO). *Semin Arthritis Rheum.* 2019;49(3):337–50. DOI: 10.1016/j.semarthrit.2019.04.008
10. FICHA TÉCNICA CONDROSULF 400 mg CAPSULAS [Internet]. [cited 2020 Oct 17]. Available from: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/64547/FichaTecnica_64547.html
11. Rintelen B, Neumann K, Leeb BF. A meta-analysis of controlled clinical studies with diacerein in the treatment of osteoarthritis. *Arch Intern Med.* 2006; 25;166(17):1899–906. DOI: 10.1001/archinte.166.17.1899
12. European Medicines Agency. PRAC re-examines diacerein and recommends that it remain available with restrictions [Internet]. London: EMA; 2014 Mar p. 2. Report No.: EMA/133894/2014. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/news/prac-re-examines-diacerein-recommends-it-remain-available-restrictions#:~:text=The%20EMA's%20Pharmacovigilance%20Risk%20Assessment,and%20effects%20on%20the%20liver.>
13. Martel-Pelletier J, Raynauld J-P, Mineau F, Abram F, Paiement P, Delorme P, et al. Levels of serum biomarkers from a two-year multicentre trial are associated with treatment response on knee osteoarthritis cartilage loss as assessed by magnetic resonance imaging: an exploratory study. *Arthritis Res Ther.* 2017 20;19(1):169. DOI: 10.1186/s13075-017-1377-y
14. Reginster JY, Deroisy R, Rovati LC, Lee RL, Lejeune E, Bruyere O, et al. Long-term effects of glucosamine sulphate on osteoarthritis progression: a randomised, placebo-controlled clinical trial. *Lancet.* 2001; 27;357(9252):251–6. DOI: 10.1016/S0140-6736(00)03610-2
15. Nguyen M, Dougados M, Berdah L, Amor B. Diacerein in the treatment of osteoarthritis of the hip. *Arthritis Rheum.* 1994; 37(4):529–36. DOI: 10.1002/art.1780370413

16. AEMPS. FICHA TECNICA GLUCOSAMINA CINFA 1500 mg POLVO PARA SOLUCION ORAL EFG [Internet]. 2020 Mar [cited 2020 Nov 21]. Available from: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/68105/FichaTecnica_68105.html
17. FICHA TECNICA GALAXDAR 50 mg CAPSULAS DURAS [Internet]. [cited 2020 Oct 18]. Available from: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/64554/FT_64554.html
18. Almezgagi M, Zhang Y, Hezam K, Shamsan E, Gamah M, Al-Shaebi F, et al. Diacerein: Recent insight into pharmacological activities and molecular pathways. *Biomed Pharmacother.* 2020; 25;131: 110594. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110594
19. Morita M, Yamada K, Date H, Hayakawa K, Sakurai H, Yamada H. Efficacy of Chondroitin Sulfate for Painful Knee Osteoarthritis: A One-Year, Randomized, Double-Blind, Multicenter Clinical Study in Japan. *Biol Pharm Bull.* 2018; 1;41(2):163–71. DOI: 10.1248/bpb.b17-00556
20. Shin K, Kim JW, Moon KW, Yang JA, Lee EY, Song YW, et al. The efficacy of diacerein in hand osteoarthritis: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Clin Ther.* 2013; 35(4):431–9. DOI: 10.1016/j.clinthera.2013.02.009
21. Henrotin Y, Marty M, Mobasheri A. What is the current status of chondroitin sulfate and glucosamine for the treatment of knee osteoarthritis? *Maturitas.* 2014; 78(3):184–7. DOI: 10.1016/j.maturitas.2014.04.015
22. Zheng W-J, Tang F-L, Li J, Zhang F-C, Li Z-G, Su Y, et al. Efficacy and safety of diacerein in osteoarthritis of the knee: a randomized, multicenter, double-dummy, diclofenac-controlled trial in China. *APLAR Journal of Rheumatology.* 2006;9(1):64–9. DOI: 10.1111/j.1479-8077.2006.00167.x
23. Louthrenoo W, Nilganuwong S, Aksaranugraha S, Asavatanabodee P, Saengnipanthkul S, Thai Study Group. The efficacy, safety and carry-over effect of diacerein in the treatment of painful knee osteoarthritis: a randomised, double-blind, NSAID-controlled study. *Osteoarthritis Cartilage.* 2007; 15(6):605–14. DOI: 10.1016/j.joca.2007.02.021
24. Singh K, Sharma R, Rai J. Diacerein as adjuvant to diclofenac sodium in osteoarthritis knee. *Int J Rheum Dis.* 2012;15(1):69–77. DOI: 10.1111/j.1756-185X.2011.01648.x
25. Dougados M, Nguyen M, Berdah L, Mazières B, Vignon E, Lequesne M, et al. Evaluation of the structure-modifying effects of diacerein in hip osteoarthritis: ECHODIAH, a three-year, placebo-controlled trial. Evaluation of the Chondromodulating Effect of Diacerein in OA of the Hip. *Arthritis Rheum.* 2001; 44(11):2539–47. DOI: 10.1002/1529-0131(200111)44:11<2539::aid-art434>3.0.co;2-t
26. Vignon E. [Results of the ECHODIAH clinical trial on hip arthrosis]. *Presse Med.* 2002; 12;31(1 Pt 2):7–9.
27. European Medicines Agency. Assessment report for diacerein containing medicinal products [Internet]. 2014. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/diacerein-article-31-referral-prac-assessment-report_en.pdf
28. Pham T, Le Henanff A, Ravaud P, Dieppe P, Paolozzi L, Dougados M. Evaluation of the symptomatic and structural efficacy of a new hyaluronic acid compound, NRD101, in comparison with diacerein and placebo in a 1 year randomised controlled study in symptomatic knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis.* 2004; 63(12):1611–7. DOI: 10.1136/ard.2003.019703
29. Hochberg MC, Martel-Pelletier J, Monfort J, Möller I, Castillo JR, Arden N, et al. Combined chondroitin sulfate and glucosamine for painful knee osteoarthritis: a multicentre, randomised, double-blind, non-inferiority trial versus celecoxib. *Ann Rheum Dis.* 2016; 75(1):37–44. DOI: 10.1136/annrheumdis-2014-206792
30. Simental-Mendía M, Sánchez-García A, Vilchez-Cavazos F, Acosta-Olivo CA, Peña-Martínez VM, Simental-Mendía LE. Effect of glucosamine and chondroitin sulfate in symptomatic knee osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. *Rheumatol Int.* 2018; 38(8):1413–28. DOI: 10.1007/s00296-018-4077-2

31. Zhu X, Sang L, Wu D, Rong J, Jiang L. Effectiveness and safety of glucosamine and chondroitin for the treatment of osteoarthritis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Orthop Surg Res.* 2018; 6;13(1):170. DOI: 10.1186/s13018-018-0871-5
32. Wandel S, Jüni P, Tendal B, Nuesch E, Villiger PM, Welton NJ, et al. Effects of glucosamine, chondroitin, or placebo in patients with osteoarthritis of hip or knee: network meta-analysis. *BMJ.* 2010; 16;341:c4675. DOI: 10.1136/bmj.c4675
33. Pelletier J-P, Raynauld J-P, Beaulieu AD, Bessette L, Morin F, de Brum-Fernandes AJ, et al. Chondroitin sulfate efficacy versus celecoxib on knee osteoarthritis structural changes using magnetic resonance imaging: a 2-year multicentre exploratory study. *Arthritis Res Ther.* 2016; 03;18(1):256. DOI: 10.1186/s13075-016-1149-0
34. Raynauld J-P, Pelletier J-P, Delorme P, Dodin P, Abram F, Martel-Pelletier J. Bone curvature changes can predict the impact of treatment on cartilage volume loss in knee osteoarthritis: data from a 2-year clinical trial. *Rheumatology (Oxford).* 2017; 01;56(6):989–98. DOI: 10.1093/rheumatology/kew504
35. Reginster J-YL, CONCEPT Investigation Group. CONCEPT provides robust evidence that chondroitin sulfate is superior to placebo and similar to celecoxib in the symptomatic management of osteoarthritis. *Ann Rheum Dis.* 2018;77(2):e11. DOI: 10.1136/annrheumdis-2017-212165
36. European Medicines Agency. Guideline of clinical investigation of medical products used in the treatment of Osteoarthritis [Internet]. London: EMA; 2020 Jan [cited 2020 Nov 2]. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-clinical-investigation-medical-products-used-treatment-osteoarthritis_en.pdf
37. Pavelká K, Gatterová J, Olejarová M, Machacek S, Giacovelli G, Rovati LC. Glucosamine sulfate use and delay of progression of knee osteoarthritis: a 3-year, randomized, placebo-controlled, double-blind study. *Arch Intern Med.* 2002; 14;162(18):2113–23. DOI: 10.1136 / annrheumdis-2017-212165
38. Monfort J, Pujol J, Contreras-Rodríguez O, Llorente-Onaindia J, López-Solà M, Blanco-Hinojo L, et al. Effects of chondroitin sulfate on brain response to painful stimulation in knee osteoarthritis patients. A randomized, double-blind, placebo-controlled functional magnetic resonance imaging study. *Med Clin (Barc).* 2017; 21;148(12):539–47. DOI: 10.1016 / j.medcli.2016.12.036
39. Martel-Pelletier J, Farran A, Montell E, Vergés J, Pelletier J-P. Discrepancies in composition and biological effects of different formulations of chondroitin sulfate. *Molecules.* 2015; 6;20(3):4277–89. DOI: 10.3390/molecules20034277
40. Arden N, Blanco FJ, Bruyère O, Cooper C, Guermazi A, Hayashi D, et al. ESCEO. Atlas of Osteoarthritis (2nd Edition) [Internet]. Springer Healthcare; 2018. Available from: <http://www.esceo.org/sites/esceo/files/pdf/Atlas%20of%20Osteoarthritis15032018.pdf>
41. Bruyère O, Altman RD, Reginster J-Y. Efficacy and safety of glucosamine sulfate in the management of osteoarthritis: Evidence from real-life setting trials and surveys. *Semin Arthritis Rheum.* 2016; 45(4 Suppl):S12-17. DOI: 10.1016/j.semarthrit.2015.11.011
42. Reginster J-Y, Dudler J, Blicharski T, Pavelka K. Pharmaceutical-grade Chondroitin sulfate is as effective as celecoxib and superior to placebo in symptomatic knee osteoarthritis: the ChONDroitin versus CElecoxib versus PlacEbo Trial (CONCEPT). *Ann Rheum Dis.* 2017; 76(9):1537–43. DOI: 10.1136/annrheumdis-2016-210860
43. Agencia Española de Medicamento y Productos Sanitarios. Diacereína: la evaluación europea concluye que el balance beneficio-riesgo es desfavorable [Internet]. Madrid; 2013 Nov p. 3. (MUH (FV), 20/2013). Available from: https://www.aemps.gob.es/informa/notasInformativas/medicamentosUsoHumano/seguridad/2013/docs/NI-MUH_FV_30-2013-diacereina.pdf?x27133
44. Rubio-Terrés C, Grupo del estudio VECTRA. [An economic evaluation of chondroitin sulfate and non-steroidal anti-inflammatory drugs for the treatment of osteoarthritis. Data from the VECTRA study]. *Reumatol Clin.* 2010; 6(4):187–95. DOI: 10.1016/j.reuma.2009.12.009

45. Lagnaoui R, Baumevielle M, Bégau B, Pouyanne P, Maurice G, Depont F, et al. Less use of NSAIDs in long-term than in recent chondroitin sulphate users in osteoarthritis: a pharmacy-based observational study in France. *Therapie*. 2006; 61(4):341–6. DOI: 10.2515/therapie:2006063

© BY-NC-SA 4.0