



MINISTERIO DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
CENTRO NACIONAL DE CONTROL
DE CALIDAD



UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA



DISEÑO E INTERPRETACION DE PRUEBAS FARMACOLOGICAS EN CONTROL DE CALIDAD

RED DE LABORATORIOS DE CONTROL DE CALIDAD DE
MEDICAMENTOS DEL SECTOR SALUD



MINISTERIO
DE SALUD

VOLUMEN II

SERIE DE DOCUMENTOS Nº 3

Lima, Enero 1997



MINISTERIO DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
CENTRO NACIONAL DE CONTROL
DE CALIDAD



UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA



DISEÑO E INTERPRETACION DE PRUEBAS FARMACOLOGICAS EN CONTROL DE CALIDAD

RED DE LABORATORIOS DE CONTROL DE CALIDAD DE
MEDICAMENTOS DEL SECTOR SALUD



VOLUMEN II

SERIE DE DOCUMENTOS Nº 3

Lima, Enero 1997

*Este libro está dedicado a la memoria
del Señor Profesor Doctor Augusto Yi Chu
(1932-1996)*

© Ministerio de Salud
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
Jr. Cápac Yupanqui 1400, Jesús María
Telf. 471-3254 / Fax: 471-7443
Lima, Perú, 1996

**DISEÑO E INTERPRETACION DE PRUEBAS
FARMACOLOGICAS DE CONTROL DE CALIDAD**

COMITÉ DE REDACCIÓN

MSc. María Salas Arruz
Dr. Alfonso Zavaleta Martínez-Vargas
Dr. Ramiro Castro de la Mata Caamaño
Dr. Renán Manrique Mejía
MSc. César Puicón Montero
Dra. Alicia Darg Barbieri
Dra. Zoila Sánchez de Van Oordt
Dr. Ramón Zaldivar Sobrado

COMITÉ EDITOR

Dr. Alfonso Zavaleta Martínez-Vargas
MSc. María Salas Arruz
Dr. César Cabezas Sánchez
Dr. Carlos Carrillo Parodi
Dr. Jaime Chang Neyra

MINISTERIO DE SALUD

ALTA DIRECCIÓN

Dr. Marino Costa Bauer
Ministro

Dr. Alejandro Aguinaga Recuenco
Viceministro

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD

Dr. Carlos Carrillo Parodi
Jefe

CENTRO NACIONAL DE CONTROL DE CALIDAD

Dr. Alfonso Zavaleta Martínez-Vargas
Director General

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA

Dr. Carlos Vidal Layseca
Rector

ESCUELA DE POSTGRADO VICTOR ALZAMORA CASTRO

Dr. Enrique Machicado Zavala
Director

SERVICIO DE CONTROL DE CALIDAD

Dr. Ramiro Castro de la Mata Caamaño
Director

PERFIL DE AUTORES Y EDITORES

Dr. César Cabezas Sánchez

Médico Cirujano, Master en Medicina, Especialista Enfermedades Infecciosas y Tropicales
Director General, Centro Nacional de Laboratorios de Salud Pública, INS, MINSA
Profesor invitado de Medicina Tropical, Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad Peruana Cayetano Heredia

Dr. Carlos Carrillo Parodi

Médico Cirujano, Doctor en Medicina
Profesor Principal, Departamento Académico de Microbiología, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia
Jefe, Instituto Nacional de Salud

Dr. Ramiro Castro de la Mata Caamaño

Médico Cirujano, Doctor en Medicina
Profesor Principal, Sección Farmacología, Departamento Académico de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia.
Director Asociado de Ciencias, Escuela de Postgrado Víctor Alzamora Castro, Universidad Peruana Cayetano Heredia
Director; Servicio de Control de Calidad, Universidad Peruana Cayetano Heredia

Dr. Jaime Oscar Chang Neyra

Médico Cirujano, Master of Science in Community Health in Developing Countries
Director Ejecutivo de Garantía de la Calidad y Certificación, Centro Nacional de Control de Calidad, INS, MINSA
Investigador, Instituto de Medicina Tropical "Alexander Von Humbolt", Universidad Peruana Cayetano Heredia

Dra. Alicia Darg Barbieri

Químico Farmacéutica, Doctora en Farmacia
Decana Nacional, Colegio Químico-Farmacéutico del Perú.
Profesora Principal, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Dr. Renán Manrique Mejía

Médico Cirujano, Doctor en Medicina
Profesor Principal, Sección Farmacología, Departamento Académico de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia.

MSc. César Puicón Montero

Magister en Estadística, Licenciado en Educación-Matemáticas
Profesor Asociado, Departamento Académico de Estadística y Demografía, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia.
Profesor Principal, (cesante), Facultad de Ciencias Matemáticas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

MSc. María Salas Arruz

Biólogo, Magister en Fisiología
Profesor Asociado, Sección Farmacología, Departamento Académico de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia.
Coordinadora Técnico-Administrativa, Servicio de Control de Calidad, Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Dra. Zoila Sánchez de Van Oordt

Químico Farmacéutica, Doctora en Farmacia
Past Decana, Colegio Químico Farmacéutico del Perú.
Premio Hipólito Unanue y Daniel Alcides Carrión.
Presidenta, Sistema de Información Científica "Antonio Raimondi" (SICAR)

Dr. Ramón Zaldivar Sobrado

Médico Veterinario.
Profesor Principal de Farmacología y Toxicología Veterinaria. Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
Director Técnico, Ilender Corporation, Lima.
Representante, Colegio Médico Veterinario de Lima.

Dr. Alfonso Zavaleta Martínez-Vargas

Médico Cirujano, Doctor en Farmacología
Profesor Principal DES, Coordinador Sección Farmacología, Departamento Académico de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia.
Miembro, Instituto de Medicina Tropical "Alexander von Humboldt", Universidad Peruana Cayetano Heredia.
Director General, Centro Nacional de Control de Calidad, INS, MINSA.

PRESENTACIÓN

El vertiginoso avance de la tecnología y la industria en las últimas décadas, así como el cada vez más importante rol del consumidor como agente de cambio, contribuyen para que en la actualidad tomemos nuestra mirada cada vez con mayor frecuencia a la calidad de los productos que consumimos, cuya evaluación requiere de la participación multidisciplinaria de especialistas de diversas ramas científico-tecnológicas del conocimiento: farmacéuticos, biólogos, farmacólogos, médicos humanos y veterinarios, ingenieros, químicos, biotecnólogos y otros.

El libro trata sobre los ensayos farmacológicos aplicados al control de calidad, tema poco desarrollado en el país, por lo que la obra tiene por objeto difundir conocimientos sobre aspectos básicos de diseño e interpretación de las pruebas farmacológicas aplicables al control de calidad de medicamentos, biológicos, alimentos, cosméticos, productos industriales y recursos naturales terapéuticos, abordando en forma sencilla y práctica, una amplia variedad de tópicos que incluyen a las pruebas en órganos aislados y animales intactos, el biodosaje, la evaluación de la toxicidad letal, cutánea y ocular, la prueba de Endotoxinas Bacterianas por la Técnica de Lisado de Amebocitos de *Limulus* (LAL) que actualmente viene reemplazando a la prueba de pirógenos en conejos; el diseño estadístico, los estudios de biodisponibilidad, y las principales pruebas y ensayos requeridos por la Farmacopea Americana USP, cuya edición 23 constituye la obra oficial de mayor exigencia en el área farmacéutica.

El Instituto Nacional de Salud y la Universidad Peruana Cayetano Heredia, en cumplimiento de sus objetivos institucionales de difusión del conocimiento científico-tecnológico para la formación de recursos humanos calificados en salud, así como impulsar la investigación científica nacional, aúnan esfuerzos al presentar este libro, en el que se reúnen las ponencias presentadas en el Curso “Diseño e Interpretación de Pruebas Farmacológicas en Control de Calidad”¹, que fuera organizado por el Servicio de Control de Calidad y la Escuela de Postgrado Víctor Alzadora Castro de la Universidad, bajo el auspicio del Instituto Nacional de Salud.

Lima, Diciembre de 1996

Dr. Alfonso Zavaleta Martínez-Vargas
MSc. María Salas Arruz
Editores

¹ Casa Honorio Delgado, UPCH, Lima 13 al 16 de marzo de 1996.

SECTOR SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD



No. 212-96-J-IPD/INS

RESOLUCION JEFATURAL

Lima, 09 de *septiembre* de 1996

CONSIDERANDO :

Que, el Instituto Nacional de Salud, a través de su Centro Nacional de Control de Calidad en colaboración con el Servicio de Control de Calidad de la Universidad Peruana Cayetano Heredia y dentro del marco del convenio de cooperación vigente entre ambas instituciones, han formulado el documento Diseño e Interpretación de Pruebas Farmacológicas en Control de Calidad.

Que en tal virtud resulta necesario aprobar y difundir dicho documento, para su utilización.

De conformidad con lo dispuesto en el Reglamento de Organización y Funciones del INS, aprobado por R.M. N° 178-95-SA/DM; y

Estando a lo acordado:

SE RESUELVE:

Artículo 1º.- Aprobar el documento titulado: "Diseño e interpretación de Pruebas Farmacológicas en Control de Calidad", perteneciente a la Serie de Documentos del Instituto Nacional de Salud.

Artículo 2º.- Disponer la impresión y distribución del documento a que se refiere el numeral anterior.

Regístrese y comuníquese.



Carroll
DR. CARLOS CARRILLO PARODI
JEFE
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD

AGRADECIMIENTOS

El Comité Editor expresa su agradecimiento a los señores doctores Enrique Machicado, Inés González de Merino, Jenny Castañón, Hayde Velásquez, Jorge Castillo y León Villegas, por su participación y colaboración en el Curso “Diseño e Interpretación de Pruebas Farmacológicas en Control de Calidad”.

A Verónica Vásquez, Erika Wu, Rosa Mosqueda, Jorge Sánchez, Dora Maúrtua, Irma Fernández y Daniel Palacios por el apoyo brindado.

Al Colegio Químico Farmacéutico del Perú, Colegio Médico Veterinario de Lima; Colegio de Biólogos del Perú; a la Sociedad Peruana de Farmacología y Terapéutica Experimental, Compañía Oscar R. Lindley e Hijos y Laboratorios Abeefe, por el auspicio otorgado.

Esta obra se realizó en el marco del Convenio de Cooperación suscrito entre el Instituto Nacional de Salud y la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

ÍNDICE

VOLUMEN I

Presentación	6
Resolución Jefatural.....	7
Agradecimientos	8

CAPÍTULO I

Pruebas farmacológicas exigidas por la Farmacopea de los Estados Unidos (USP).....	10
--	----

CAPÍTULO II

Diseño e interpretación de pruebas en órganos aislados y animales intactos.....	28
---	----

CAPÍTULO III

Introducción al biodosaje.....	32
--------------------------------	----

CAPÍTULO IV

Toxicidad: Diseños experimentales y aplicación de programas estadísticos computarizados.....	39
--	----

CAPÍTULO V

Pirógenos y ensayo de endotoxinas bacterianas (LAL) en la industria farmacéutica.....	43
---	----

VOLUMEN II

Presentación	6
Resolución Jefatural.....	7
Agradecimientos	8

CAPÍTULO VI

Ensayos de toxicidad cutánea y ocular: Aplicación en la industria cosmética y farmacéutica.....	10
---	----

CAPÍTULO VII

Diseño estadístico	18
--------------------------	----

CAPÍTULO VIII

Farmacocinética y farmacodinamia: Su importancia en la terapéutica.....	28
---	----

CAPÍTULO IX

Diseño de pruebas de Biodisponibilidad.....	41
---	----

CAPÍTULO X

Mesa Redonda: Rol de las pruebas farmacológicas en el control de calidad.....	44
---	----

CAPÍTULO VI

ENSAYOS DE TOXICIDAD CUTANEA Y OCULAR: APLICACION EN LA INDUSTRIA COSMETICA Y FARMACEUTICA

MSc. María Salas Arruz

ENSAYOS DE TOXICIDAD CUTANEA Y OCULAR: APLICACION EN LA INDUSTRIA COSMETICA Y FARMACEUTICA

MSc. María Salas Arruz

Las diversas formulaciones cosméticas tienen como objetivo mantener un aspecto joven y lozano de la superficie del cuerpo y se han clasificado de acuerdo a la parte del cuerpo a la que está destinado su uso:

- Cosméticos para la piel (povos, cremas, lociones, jabones, lápiz, barras de labios, etc.)
- Cosméticos para el cabello (champúes, tintes, etc.)
- Cosméticos para los ojos (rimel, sombras, etc.)

Es conocido que algunos agentes que forman parte de la formulación de estos cosméticos pueden causar efectos irritantes en la piel u ojos, cuyo grado de severidad va a depender de la concentración del agente y de forma de uso del compuesto (tiempo de exposición). Asimismo existe una serie de medicamentos y vehículos que se aplican tópicamente para obtener efectos locales y generales y que son capaces de alterar las características físicas de la piel. El estudio de la actividad y toxicidad (entre ellas irritación) provocada por las sustancias que se aplican localmente a la piel y a las mucosas, se efectúa por lo general en el conejo y el cobayo y en algunos casos especiales en la piel humana.

SENSIBILIDAD CUTANEA

La piel reacciona con la inflamación al estímulo irritativo, al igual que otros tejidos, los estadios sucesivos de la reacción incluyen el eritema, la vesícula, la pústula y la úlcera.

La prueba de sensibilidad cutánea es realizada dentro de los controles de calidad para el producto terminado y para la evaluación de una formulación en proceso de producción, estableciendo el laboratorio fabricante las especificaciones del grado o índice de irritabilidad de acuerdo al tiempo de contacto y a la forma de uso, por ejemplo el efecto irritante es común en los jabones y tensoactivos sintéticos, sin embargo el tiempo de contacto con la piel en comparación con una crema es diferente. Las cremas requieren de gran cuidado en su preparación ya que son productos que están por más tiempo en contacto con la piel y por ende son los que más influyen sobre ésta, los povos, lápices de labios y otros sólo enmascaran el rostro en forma pasajera y circunstancial.

En la actualidad no existe normatividad peruana en cosméticos ni en medicamentos para la selección de una técnica y especificación para evaluar el grado de irritación en piel, quedando a criterio de los laboratorios productores, por ejemplo se considera que una crema no debe ser irritante mientras que una loción que contiene alcohol puede tener algún grado de irritación.

Existen diversas técnicas para evaluar el grado de irritación en la piel, la mayoría de ellas emplean al conejo. A continuación detallamos un método semicuantitativo que ofrece a nuestra consideración menor posibilidad de error (Finklestein modificado).

PRUEBA DE SENSIBILIDAD CUTANEA Y REACTIVIDAD AGUDA EN CONEJOS Método de Finklestein modificado

1. Fundamento:

La prueba mide la irritabilidad aditiva producida por una sustancia de prueba y un irritante primario (formaldehído). Un colorante vital es inyectado por vía endovenosa, donde se une a las proteínas

circulantes y es extravasado en la piel inflamada y/o irritada por la acción de la sustancia de prueba. Como control positivo se emplea etanol absoluto y como control negativo se emplea agua destilada o aceite vegetal según sea el caso.

2. Modelo animal:

- Conejos albinos, machos, de 2 a 2.5 kg.

3. Reactivos:

- Solución acuosa de azul de Evans al 1%
- Solución de formaldehído al 10%
- Etanol absoluto
- Agua destilada (solución control)
- Aceite vegetal (solución control)

4. Materiales:

- Crema depilatoria
- Parches oclusivos
- Torundas de algodón
- Lápiz de cera
- Gasa aséptica
- Jeringas estériles descartables 2 ml con aguja 26
- Reloj

5. Procedimiento:

- El conejo es colocado en posición supina (exponiendo el abdomen) sobre una mesa y su abdomen es depilado cuidadosamente.
- Veinticuatro horas después el animal es colocado nuevamente en la mesa y con un lápiz de cera se demarca en el abdomen hasta ocho áreas de 2,5 cm de diámetro. Con ayuda de una torunda de algodón se aplica en cada área 0,1 mL de solución de formaldehído al 10% y se deja secar por evaporación (repetir el procedimiento tres veces sucesivas).
- Los parches oclusivos se impregnan con las muestras problema y/o controles (positivo y negativo), y se colocan en las áreas pretratadas con solución de formaldehído. Se colocan un mínimo de tres parches por cada muestra a evaluar.
- Toda el área del abdomen es inmovilizado con la ayuda de una gasa a manera de faja.
- Inmediatamente después se inyecta 1,5 mL de la solución de Azul de Evans al 1% por vía endovenosa.
- La evolución de las lesiones se evalúa a las 1, 6, 9, 16 y 24 horas, después de inyectado el colorante.

6. Evaluación (Ver Foto 1)

El control positivo, desarrolla una mancha de color azul intenso (100%). El control negativo no desarrolla mancha coloreada (0%).

Para la evaluación se determina comparativamente con el control positivo, una escala semicuantitativa (ver Tabla 1) basada en la intensidad de color desarrollada en el área tratada.

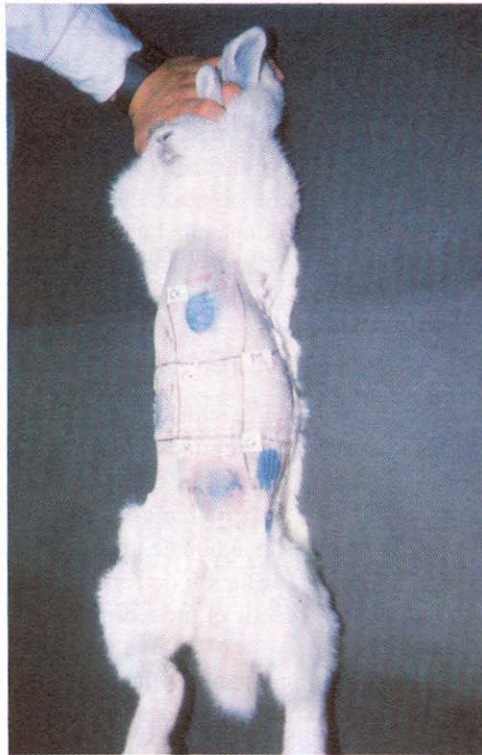


Foto 1 :
Lectura de la
prueba a las
24 horas.

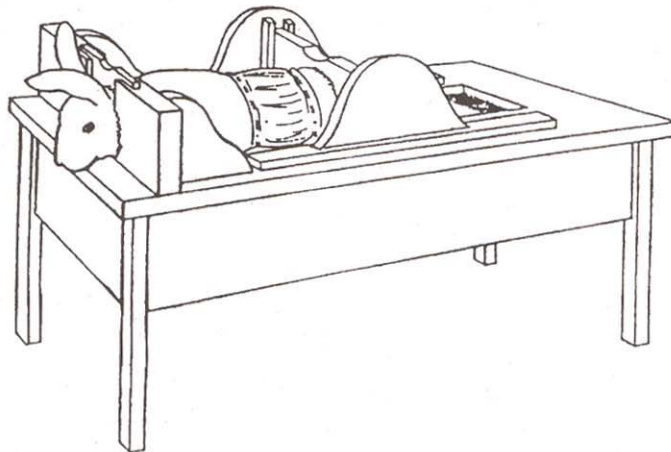


Figura 1 : Mesa de sujeción universal para los estudios de piel
sobre el conejo.

TABLA 1
ESCALA SEMICUANTITATIVA PARA EVALUACION DE
LA PRUEBA DE SENSIBILIDAD CUTANEA

Puntaje	Efecto
0-	No irritante
+	Irritante leve
++	Irritante moderado
+++	Irritante
++++	Fuertemente irritante

Otros métodos alternativos como el de Draize, Woodward y Calvery (1944) emplea el dorso del conejo, inmovilizando en una mesa de sujeción (Figura 1) y colocando las muestras en mangas cilíndricas que están en contacto con la piel del animal.

El método de Finklestein es posterior al de Draize y Col. y tiene una buena correlación con los resultados obtenidos con voluntarios humanos.

IRRITABILIDAD OCULAR

La prueba de irritabilidad ocular en cosmética está dirigida a algunos preparados (rimel, sombras, champúes) que por la forma de uso podrán introducirse accidentalmente en la mucosa del ojo.

El método más empleado es el Draize y colaboradores descrito en 1944 y que con algunas modificaciones es apropiado para evaluar colirios, fármacos y cosméticos.

Las variaciones del método se basan en el número de aplicaciones de la muestra, tiempo de observación y forma de cuantificación. El método descrito en la quinta edición de la Farmacopea Mexicana (1988), sólo es cualitativo y está dirigido a evaluar colirios y fármacos, los cuales no deben producir irritación, mientras que una segunda variación, la cual también describimos; es empleada para evaluar cosméticos, permitiéndonos efectuar evaluaciones comparativas de la actividad irritante ocular de formulaciones diferentes de un mismo producto o lotes.

METODO DE IRRITABILIDAD OCULAR

(Farmacopea Mexicana, 1988)

Se consideran cuatro parámetros para la interpretación de la prueba: opacidad de la córnea, iritis, enrojecimiento de la conjuntiva y quemosis.

Para cada muestra usar seis conejos de cualquier sexo, de entre 2.0 y 2,5 kg, de peso debiendo estar seguros de que antes y durante la prueba estos animales se han mantenido en condiciones óptimas, a fin de evitar que les caiga al ojo polvo, aserrín o cualquier otro material extraño que pueda producir irritación ocular.

Se examinan ambos ojos de cada animal que se pretende emplear para la prueba, y sólo se escogen aquellos animales sin defectos o irrigación ocular. Cada animal se sujeta firme pero suavemente para que permanezca quieto.

Se aplica el material de prueba a un ojo de cada animal jalando suavemente hacia afuera el párpado inferior del globo ocular, a modo de formar una especie de recipiente en el cual se deposita la muestra. Mantener los párpados suavemente por un segundo, y dejar al animal en reposo.

El otro ojo, que permanece sin tratar, sirve como control. Para probar líquidos, instilar 0,1 mL y para muestras sólidas o en pasta se emplean 100 mg, excepto cuando la sustancia está en escamas, gránulos, polvo u otra forma particulada, en cuyo caso aplicar 0,1 mL de la sustancia compactada lo más que sea posible sin triturar ni alterar las partículas individuales, aun cuando el peso de tal volumen sea inferior a 100 mg. En tal caso, debe registrarse el peso de la dosis de prueba.

Examinar los ojos a las 24, 48 y 72 horas, y registrar el grado de reacción ocular.

Si se juzga conveniente, alguno o todos los ojos pueden lavarse con solución salina fisiológica estéril, después de la lectura a las 24 horas.

Se debe considerar que un animal exhibe una reacción positiva si la sustancia a probar produce, a cualquiera de las lecturas, ulceración de la córnea (que no sea un punteado fino), opacidad de la misma (que no sea una disminución ligera del lustre normal), iritis (que no sea una ligera profundización de los

dobleces o una leve inyección de los vasos sanguíneos circuncorneales), o si dicha sustancia produce en la conjuntiva excluyendo la córnea y el iris una inflamación obvia con eversión parcial de los párpados o un enrojecimiento carmesí difuso, con los vasos individuales no discernibles con facilidad.

La prueba debe considerarse positiva si cuatro o más de los animales en el grupo de prueba exhiben una reacción positiva. Si sólo un animal exhibe una reacción positiva, la prueba debe considerarse como negativa. Si dos o tres animales muestran una reacción positiva, la prueba se repite empleando un grupo diferente de seis animales.

La segunda se considera positiva si tres o más de los animales exhiben una reacción positiva. Si sólo uno o dos de los animales de la segunda prueba exhiben una reacción positiva, la prueba debe repetirse con un grupo diferente de seis animales.

En caso de que se requiera una tercera prueba, la sustancia se considerará como irritante si cualquier animal exhibe una respuesta positiva.

IRRITABILIDAD OCULAR EN COSMETICOS

(Método de Draize modificado)

Las variaciones del método de Draize para la evaluación de cosméticos como por ejemplo champú, crema de párpados, sombras, rimel, etc; han sido realizadas no sólo para determinar el índice de irritación ocular que puede causar el producto por el uso continuo o la instilación accidental en el ojo, sino que tiene como objetivo conocer si el producto puede causar lesión en la córnea o daño ocular severo (índice ocular alto), así como comparar el efecto irritante ocular entre las diversas formulaciones de un mismo producto.

Las principales modificaciones efectuadas a la técnica original incluyen:

- a. El empleo de dosis múltiples de la muestra.
- b. Ampliación del tiempo observación hasta 7 días.
- c. Empleo de un índice numérico para la evaluación del efecto (ver tabla 2).
- d. Tiene como objetivo comparar el índice de lesión ocular de diversas formulaciones o lotes.

Las condiciones experimentales son semejantes a la técnica descrita anteriormente en relación al animal experimental, y parámetros a evaluar. La dosis o cantidad de muestra a instilar varía según el producto.

Con el fin de visualizar mejor el posible daño ocular se emplea Fluoreceína al 2%. Las lecturas se realizan durante 7 días, según formato adjunto, obteniéndose el índice ocular numérico por cada día en base a la Tabla 2.

Como resultado de la prueba se expresa el máximo índice ocular numérico obtenido durante los siete días.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicano. 5ta. Edición. México, 1988. MGA 0516, pág. 194.
2. Guerra P.C., F. (1946). Métodos en Farmacología Experimental. Editorial Hispanoamericana (UTEHA), México.

TABLA 2
Prueba de Irritabilidad ocular inducida por cosméticos :
Indice numérico

I. Córnea	
A. Grado de opacidad	
Opacidad ligera	1
Áreas opacas diseminadas	2
Áreas translucidas con iris visible	3
Opacidad completa con iris invisible	4
B. Extensión de la opacidad	
Más de 1/4 del área total	1
Más de 1/4 y menos de 1/2 del área	2
Menos de 3/4 y más de 1/2 del área	3
Más de 3/4 del área total	4
Total de lesiones corneales A x B x 5 = 80	
II. Iris	
A. Evaluación de las lesiones	
Con alteraciones pero reaccionando a la luz	1
Lesionados hasta que no reaccionan a la luz	2
Total de las lesiones iridianas A x 5 = 10	
III. Conjuntiva	
A. Enrojecimiento	
Vasos enrojecidos sobre lo normal	1
Enrojecimiento moderado	2
Enrojecimiento difuso intenso	3
B. Edema	
Edema ligero, incluyendo la membrana nictitante	1
Edema con eversión parcial del párpado	2
Edema con párpados cerrados a la mitad	3
Edema con párpados totalmente cerrados	4
C. Secreción	
Secreción ligera	1
Secreción moderada en ambos párpados	2
Secreción en ambos párpados y alrededores	3
Total de lesiones en la conjuntiva (A+B+C) x 2 = 20	



UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA
 Av. Honorio Delgado N° 430, Urb. Ingeniería, San Martín de Porras
 Teléfonos 482-0595 / 482-0252 anexo 424 - Cable : U:CAYHEREDIA
 Telefax : 483-2188 - Apartado Postal 4314. Lima-Perú

SERVICIO DE CONTROL DE CALIDAD

**REPORTE DE IRRITACION OCULAR
 METODO DE DRAIZE MODIFICADO PARA COSMETICOS**

Nombre del Producto :
 Fabricante :
 N° de Lote : Código del SCC :

RSE N°		Tiempo de Observación					
MUESTRA N°		1h	24h	48h	72h	96h	7 días
Conejo N°	Córnea	Opacidad					
		Ulceración					
	Conjuntiva	Inflamación					
		Irritación					
Iris	Iritis						
Conejo N°	Córnea	Opacidad					
		Ulceración					
	Conjuntiva	Inflamación					
		Irritación					
Iris	Iritis						
Conejo N°	Córnea	Opacidad					
		Ulceración					
	Conjuntiva	Inflamación					
		Irritación					
Iris	Iritis						
Conejo N°	Córnea	Opacidad					
		Ulceración					
	Conjuntiva	Inflamación					
		Irritación					
Iris	Iritis						
Conejo N°	Córnea	Opacidad					
		Ulceración					
	Conjuntiva	Inflamación					
		Irritación					
Iris	Iritis						

RESUMEN DEL ANALISIS

Segmento ocular	1h	24h	48h	72h	96h	7 días
Córnea						
Iris						
Conjuntiva						
Promedio diario						

Córnea = Opacidad x Area x 5 iris = Resultado x 5

Conjuntiva = (Rojez + Quemosis + Descarga) x 2

CAPÍTULO VII

DISEÑO ESTADÍSTICO

MSc. César Puicón Montero

DISEÑO ESTADÍSTICO

MSc. César Puicón Montero

QUE ES UN DISEÑO EXPERIMENTAL

Un experimento diseñado es una secuencia de actividades que se planifican con el propósito de adquirir información. Se diseñan en tal forma que el investigador puede controlar, manejar o producir cambios en al menos una variable que le interesa, de manera que sea posible observar e identificar las causas de los cambios en las respuestas.

Para que un experimento se lleve a cabo en forma eficiente, es necesario emplear métodos científicos en su planificación. Mediante el diseño estadístico se obtienen datos apropiados que podrán ser analizados utilizando métodos estadísticos y así deducir conclusiones válidas y objetivas.

Podemos decir que hay dos aspectos en todo problema experimental (problema que considere datos sujetos a errores experimentales): el diseño del experimento y el análisis estadístico de los datos. Estos dos aspectos están estrechamente relacionados puesto que el método de análisis depende directamente del diseño utilizado; como veremos en los ejemplos descritos.

PRINCIPIOS BASICOS

Hay tres principios básicos que deben cumplirse en el diseño de un experimento: la obtención de réplicas o repeticiones, la aleatorización y el análisis por bloques.

La réplica: Se refiere a la repetición del experimento básico en condiciones similares. La réplica es conveniente por lo siguiente:

1. Hace posible el cálculo de una estimación del error experimental; tal estimación permite determinar si las diferencias observadas en los datos son estadísticamente significativas.
2. Permite al experimentador calcular una estimación más precisa del efecto de un factor en el experimento.
3. Aumenta las posibilidades de generalizar los resultados experimentales.

La aleatorización: Es la base en la fundamentación del uso de los métodos estadísticos en el diseño de experimentos. Se entiende por aleatorización al hecho de que tanto el material experimental (unidades experimentales) como el orden en que se realizan las pruebas individuales o ensayos, se determinan en forma aleatoria. La aleatorización adecuada ayuda a cancelar los efectos de los factores extraños que pueden estar presentes. La aleatorización confirma la suposición de que las observaciones (o errores) sean variables aleatorias independientes.

Análisis por bloques: Es una técnica experimental que se utiliza para incrementar la precisión del experimento. *Un bloque* es un conjunto de unidades experimentales que son homogéneas en los factores que el investigador cree que pueden influir en los resultados. En general, podemos decir que un bloque es una porción de material experimental más homogéneo que el total del material.

CONTRASTE DE HIPOTESIS

Existen muchos métodos en inferencia estadística, disponibles como herramientas para extraer conclusiones a partir de observaciones experimentales. Estos métodos se conocen como “pruebas” o contraste de hipótesis. Cada método tiene su propio campo de acción y sus peculiares propiedades que lo

hacen conveniente para un propósito dado. No obstante sus otras propiedades, casi todas las “pruebas” tienen una idea básica común.

Resumiendo el procedimiento conocido como “Pruebas de Hipótesis”, podemos decir que éste tiene los siguientes pasos:

1. Establecer la hipótesis nula (H_0) y la hipótesis alternativa (H_1).
2. Elección de una estadística de contraste apropiada.
3. Especificar el nivel de significación (α).
4. Determinar la distribución de la estadística de contraste cuando la hipótesis nula es verdadera.
5. Definir la región crítica en base a α y H_1 .
6. Calcular el valor de la estadística de contraste a partir de los resultados obtenidos en el experimento; si el valor está en la región crítica, la decisión es rechazar la hipótesis nula (H_0) en favor de la alternativa, si este valor no pertenece a la región crítica la hipótesis nula no puede ser rechazada, es decir, no hay razón suficiente para rechazar H_0 .

A continuación presentamos un ejemplo para explicar este procedimiento:

Ejemplo: Se sospecha que en conejos existe diferencia en la duración de la narcosis después de haberles administrado iguales dosis de las drogas A y B. Para establecer si esta hipótesis es válida, se lleva a cabo un experimento con los siguientes resultados:

DURACION DE NARCOSIS EN MINUTOS (X) EN DOS GRUPOS DE CONEJOS

DROGA A			
X	RANGOS	X	RANGOS
35	7	20	3
28	6	16	2
21	4	22	5
49	8	14	1

$$n_1 = 4$$

$$R_1 = 25$$

$$n_2 = 4$$

$$R_2 = 11$$

$$\text{MEDIA} = 33,5$$

$$\text{D.E.} = 11,95$$

$$\text{MEDIA} = 18$$

$$\text{D.E.} = 3,65$$

Solución:

1. *Hipótesis a contrastar*

H_0 : La duración de la narcosis es similar para las dos drogas

H_1 : La duración es diferente (contraste bilateral)

2. *Elección de la estadística de contraste*

- a. Si la variable respuesta X (duración de narcosis en minutos) tiene distribución normal, la

estadística de contraste apropiada para el análisis es la estadística t para dos muestras independientes.

- b. Si la variable respuesta X no tiene distribución normal, o simplemente no se toma en cuenta el tipo de distribución que tenga, la estadística de contraste que debemos elegir es la U de Mann - Whitney .

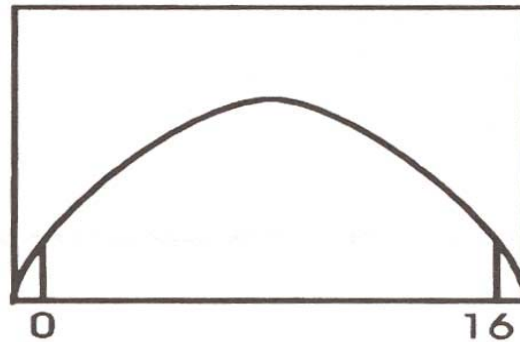
Para nuestro ejemplo, elegimos la estadística U de Mann - Whitney.

3. Región Crítica

Si elegimos $\alpha = 0,05$; la región crítica (vista el tabla) es :

$$U_0 \leq 0 \quad \text{ó} \quad U_0^1 \geq 16$$

Gráficamente



4. Cálculo del valor de la estadística de contraste

$$U_0 = n_1 n_2 + \frac{n_1 (n_1 + 1)}{2} - R_1 = 1$$

$$U_0^1 = n_1 n_2 + \frac{n_2 (n_2 + 1)}{2} - R_2 = 15$$

Valores que se encuentran en la región de no rechazo de la hipótesis nula, por lo tanto concluimos que las diferencias observadas no son estadísticamente significativas ($P > 0,05$), es decir, no hay razón suficiente para rechazar la hipótesis nula, no podemos afirmar categóricamente que la duración de la narcosis es diferente.

DESCRIPCION DE SIETE DISEÑOS

Diseño 1:

Este diseño se conoce comúnmente con el nombre de “antes y después” en donde el sujeto o la unidad experimental hace las veces de su propio control. En otros casos, la unidad de análisis está conformada por dos sujetos o unidades experimentales semejantes u homogéneas entre sí en todos los factores que pueden influir en los resultados, constituyendo así un par. Son factores para conseguir homogeneidad, sexo, raza, medio ambiente, etc.; a este diseño se le conoce como diseño en “muestras apareadas”.

De acuerdo a las suposiciones técnicas hay dos estadísticas apropiadas para analizar los datos:

- a. Si las diferencias en cada par constituyen una muestra aleatoria extraída de una distribución normal, la estadística válida para el análisis es la t de Student de las diferencias, con $n - 1$ grados de libertad.
- b. En caso contrario, la estadística de contraste es la estadística no paramétrica conocida como la Prueba de Rangos con Signo de Wilcoxon.

Se extrae una muestra aleatoria de “m” elementos de una población en estudio. Se obtiene dos observaciones de cada elemento.

Ejemplo: Se mide mediante el método de Amour y Smith (1941), el tiempo de reacción al dolor térmico en 12 ratas, antes y 30 minutos después de la administración intraperitoneal de 6 mg/Kg de morfina.

TIEMPO DE REACCION AL DOLOR TERMICO ANTES DE LA ADMINISTRACION I.P. DE 6 mg/Kg DE MORFINA (A), Y 30 MINUTOS DESPUES (B)

Rata	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	5,0	4,5	4,0	4,4	4,1	5,0	4,6	4,7	5,0	4,4	4,2	4,7
B	5,0	4,8	9,0	4,7	4,2	5,0	4,2	5,0	4,2	5,8	4,6	4,9

Diseño 2:

A este diseño se le llama *Diseño en Bloques Completos Aleatorizados*. Cada uno de los “m” elementos (perros) constituye un **bloque**.

La estadística de contraste para el análisis es:

- a. Prueba paramétrica, la estadística F (para un diseño en bloques completos aleatorizados), y el método estadístico toma el nombre de Análisis de Varianza.
- b. Prueba no paramétrica, conocida como Análisis de Varianza, con dos criterios de clasificación por Rangos de Friedman.

De una población de estudio se extrae una muestra aleatoria de “m” elementos. Sobre cada uno de ellos se hacen “k” observaciones ($k > 2$).

Ejemplo: En 6 perros se compara la acción diurética de tres tratamientos, midiendo la orina total excretada 90 minutos después de la administración de la droga.

**ACCION DIURETICA DE 1-ETILTEOBROMURO Y CAFEINA
POR INYECCION INTRAVENOSA EN PERROS ENTRENADOS
SIN ANESTESIA**

Perro	Total de orina excretada en mL durante 90 minutos después de la administración de la droga		
	Nada	1-Etilteobromuro*	Cafeína*
1	85,3	86,0	198,0
2	41,0	143,0	114,0
3	82,5	111,5	82,0
4	52,0	171,0	47,5
5	88,0	100,0	84,0
6	26,5	72,5	57,5

* La dosis fue 10 mg/kg para cada perro.

Diseño 3:

Diseño conocido como *Diseño Unifactorial con Medidas Repetidas* y la técnica estadística se llama Análisis de Varianza.

Como en el diseño 2, pero las K observaciones poseen cierto orden en relación a, por ejemplo, tiempo de dosaje.

Ejemplo (a): En 7 conejos, se determina el contenido de azúcar en sangre (en mg/100 mL) inmediatamente antes, a las 1,5; 3 y 4,5 horas después de inyectadas 0,8u de insulina.

**CONTENIDO DE AZUCAR EN SANGRE (en mg/100 mL) DE CONEJOS
INMEDIATAMENTE ANTES, A LAS 1,5; 3 y 4,5 horas
DESPUES DE INYECTAR 0,8u DE INSULINA**

Conejo	Contenido de azúcar en sangre en las horas después del dosaje			
	0	1,5	3,0	4,5
1	106	45	51	98
2	103	34	60	88
3	97	32	55	101
4	96	48	41	71
5	108	39	41	63
6	90	45	64	94
7	110	41	35	67

Ejemplo (b): Se hacen observaciones en 5 sapos para determinar si los pesos cambian gradualmente en las 3 primeras horas, después de haberles administrado vasopresina.

**PESOS DE SAPOS INMEDIATAMENTE DESPUES DE 1,2, y 3 horas
DESPUES DE LA ADMINISTRACION DE VASOPRESINA**

Sapo	Peso (g) en las horas después del dosaje			
	0	1	2	3
1	170,0	191,7	210,0	222,5
2	236,7	225,7	240,0	250,0
3	203,7	208,5	228,2	250,5
4	367,0	388,0	410,0	434,5
5	147,0	163,0	170,7	178,0

Diseño 4:

Este es un diseño experimental completamente aleatorizado. Inicialmente se tiene un grupo de ratones divididos aleatoriamente en dos subgrupos, constituyendo finalmente uno de ellos el grupo control y el otro grupo, el experimental. Teóricamente se consideran dos muestras extraídas de dos poblaciones.

Se analizan los datos con la estadística t de Student para dos muestras independientes, o con la estadística no paramétrica conocida como U de Mann-Whitney.

Se extraen dos muestras aleatorias con n_1 y n_2 elementos, de dos poblaciones que se desean estudiar.

Ejemplo: A dos grupos de ratones hembras se les inyecta intravenosamente con una solución de bemegríde en sal (1 mg/ml) a una tasa constante hasta el momento en que aparecen las primeras convulsiones clónicas. El volumen inyectado en este momento, la dosis mínima efectiva (DME) es medida en 10 animales que han sido pretratados (1 hora previamente) con 100 mg/kg de primidona por vía oral y en 9 animales control a los que se les ha administrado sal al mismo tiempo y por la misma vía.

**DOSIS EFECTIVA MINIMA DE SOLUCION DE BEMEGRIDE (en mL)
EN RATONES DESPUES DE PRETRATAMIENTO CON PRIMIDONA
(100 mg/kg) o SOLUCION SALINA, 1 hora PREVIAMENTE**

Pretratamiento	RATON N°									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Primidona	0,59	0,51	0,37	0,62	0,63	0,54	0,57	0,88	0,51	0,43
Salina	0,31	0,40	0,41	0,35	0,26	0,55	0,41	0,43	0,45	---

Diseño 5:

Es un experimento unifactorial. El único factor raza con cuatro niveles, de efectos fijos.

Si las muestras constituyen cuatro muestras aleatorias extraídas de poblaciones con distribución normal, todas de igual varianza. La técnica estadística apropiada es el Análisis de Varianza (estadística F). Si no se cumplen las suposiciones para las teorías antes mencionadas, la estadística no paramétrica apropiada es el Análisis de Varianza, con un criterio de clasificación por Rangos de Kruskal - Wallis.

Tres o más muestras (K) aleatorias con n_1 y $n_2... n_k$ elementos son extraídos de poblaciones acerca de las cuales se requiere información.

Ejemplo: A ratones de cuatro razas diferentes han sido inyectados por vía intravenosa con 60 mg/kg de sodio Hexobarbitone para investigar si la duración de la narcosis difiere entre las cuatro razas.

**DURACION DE LA NARCOSIS (min.) EN RATONES HEMBRAS
DE CUATRO RAZAS DIFERENTES DESPUES DE INYECTARLES
POR VIA INTRA VENOSA 60 mg/kg DE SODIO HEXO BARBITONE**

R A Z A			
I	II	III	IV
19,5	36,0	26,0	19,0
26,5	33,0	18,5	15,5
26,5	29,5	23,5	26,0
23,0	28,5	15,5	30,0
21,5	40,5	28,5	34,5
30,5	26,5	16,0	14,0
23,0	25,0	21,0	16,5
37,5	27,5	19,5	19,0

Diseño 6:

Experimento unifactorial similar al diseño 5.

Como el diseño 5 pero las K muestras tienen cierto orden, por ejemplo en conexión con dosaje o tiempo.

Ejemplo: En cuatro grupos de 7 ratones hembras se mide el tiempo de sueño después de la administración intravenosa de cuatro dosis en incremento de sodio hexabarbitalone.

**TIEMPO DE SUEÑO (min.) EN CUATRO GRUPOS DE RATONES
DESPUES DE LA ADMINISTRACION INTRAVENOSA DE CUATRO
DOSIS EN INCREMENTO DE SODIO HEXABARBITONE**

	G R U P O			
	I	II	III	IV
Dosis (mg/kg)	50,0	54,8	60,1	65,9
Tiempo de sueño	25,0	34,0	57,0	73,0
	34,5	74,5	71,5	38,0
	39,5	46,5	31,5	69,0
	16,0	27,0	44,5	40,0
	20,0	37,0	82,5	51,5
	32,5	61,5	63,5	129,0
	37,0	58,5	61,0	59,5

Diseño 7:

Este experimento corresponde a un análisis de correlación o asociación. Se trata de medir el grado o intensidad de la relación entre dos variables observadas o medidas simultáneamente sobre la misma unidad de asociación. La estadística no paramétrica para tal fin es el coeficiente de correlación por rangos de Spearman.

Se extrae una muestra aleatoria de tamaño **n** de una población de estudio, en cada elemento se obtiene un par de observaciones, generalmente de dos variables diferentes.

Ejemplo: En 10 ratas hembras se determina el peso corporal y el peso de las suprarrenales. ¿Hay alguna correlación entre el peso corporal y el peso de las suprarrenales?

**Peso corporal (x) y peso de las suprarrenales (y) de ratas hembras
(g y mg, respectivamente)**

Organo	R A T A S									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Xi	177	174	150	190	166	153	149	165	137	169
Yi	57,7	46,8	42,1	69,2	43,7	46,7	43,9	45,3	35,4	69,3

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. *Montgomery, D.C.* (1991). *Diseño de Experimentos*. Grupo Editorial Iberoamericana.
2. *Box, G.; Hunter, W.; Hunter, J.S.* (1978). *Statistics for Experimenters. An Introduction to Design, Data Analysis An Model Building*. John Wiley and Sons.
3. *Wayne W.D.* (1993). *Bioestadística*. Limusa Noriega Editores.
4. *Guttman, I.; Wilks, S.S. ; Hunter. S.* (1982). *Introductory Engineering Statistics*. John Wiley and Sons.
5. *Milton, J.S.; Tsokos. J.D.* (1987). *Estadística para Biología y Ciencias de la Salud Interamericana*. Mc. Graw-Hill.

CAPÍTULO VIII

FARMACOCINETICA Y FARMACODINAMIA: SU IMPORTANCIA EN LA TERAPEUTICA

Dr. Renán Manrique Mejía

FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINAMIA: SU IMPORTANCIA EN LA TERAPÉUTICA

Dr. Renán Manrique Mejía

INTRODUCCIÓN

1. Aspectos moleculares y fisicoquímicos

- 1.1. Dimensión molecular
- 1.2. Polaridad. Hidrosolubilidad. Fracción disociada
(Cociente = $\frac{O, N}{C}$). Relación de fármacos en cuanto a su fórmula
molecular global.
- 1.3. Apolaridad. Liposolubilidad. Fracción no disociada.
- 1.4. Grado de disociación molecular. Ecuación de Henderson-Hasselbalch.
- 1.5. $k_d = \left[\frac{Líp}{[H_2O]} \right]$. (coeficiente de partición líp/agua).
- 1.6. pKa. Aplicaciones. Relación de fármacos y sus valores pKa.
- 1.7. Quiralidad. Enantiomeridad. Relación Eudísmica.
- 1.8. Grado de afinidad por tejidos: Adiposo, Muscular

2. Adecuación del fármaco para su administración

- 2.1. Formulación. Base. Excipiente. Vehículos.
- 2.2. Manufactura y Farmacopea: Especialidad Farmacéutica.

3. Liberación del principio activo

- 3.1. Deagregación. Desintegración. Disolución.
- 3.2. Cinéticas de liberación: 1er. orden. Orden cero.
- 3.3. Modelos biofarmacéuticos y formas de liberación.

ASPECTOS FARMACINÉTICOS

1. Absorción

- Difusión pasiva. Transporte facilitado
- Transporte activo. Pinocitosis
- Absorción de fármacos apolares y polares, a través de membrana lipídica, de endotelio capilar y de capas epiteliales
- Cinéticas de absorción: 1er. orden. Orden cero.
- Importancia de valores pKa y constante de disociación.

2. Disposición

Distribución : Unión a proteínas. Vd.

Depuración : Biotransformación. Exocreción

$$CL_T : CL_B + CL_E$$

(Vd. Kel_T) (Vd. kel_B) (Vd. kel_E)

a. Distribución

Cinética de compartimentos

- Constantes de velocidades de cinética compartimental: Unidireccional. Bidireccional.

- Fármaco Libre -----> Proteína plasmática
- Fármaco Libre -----> Tejidos
- Fármaco Libre -----> Biofase (Tejido blanco)

b. Volumen de distribución

- Líquido plasmático
- Líquido intercelular
- Líquido intracelular
- Líquido paracelular
- Componentes celulares

c. Cinética de depuración:

$$Kel_T = Kel_B + Kel_E$$

Kel_B : Cinética de saturación (Michaelis-Menten)

Kel_E : Cinética de 1er. orden

Inducción Enzimática:

- Tabaco. Alcohol. Anticonvulsivantes (Fenobarbital, Fenitoína, Carbamazepina).

Inhibición Enzimática:

- Cimetidina. Sulfonamidas. Cloramfenicol.
- Macrólidos
- Clorpromazina

3. Curvas de concentraciones en el tiempo

3.1. Dosis única. Sistema Abierto

- Vía intravascular : 1, 2 y 3 compartimentos
- Vía extravascular : 1 y 2 compartimentos

3.2. Parámetros Farmacocinéticos

- Absorción. Disposición: Distribución y Depuración
- Ka. t máx. C máx. Margen Terapéutico. Tiempo de cubierta efectiva o terapéutica (TC_E o

TC_T). Area Bajo la Curva Efectiva (ABC_E) o terapéutica (ABC_T).

3.3. Dosis múltiples: Sistema Abierto

$$C_{IV} = \frac{D}{Vd \cdot Kel} \quad C_{EB} = \frac{fD}{Vd \cdot Kel}$$

3.4. Dosificación

- Dosis carga:

$$D^* = C_p \times Vd$$

$$fD^* = C_p \times Vd$$

Dosis de Mantenimiento:

$$DM = C_p \times CL_T$$

4. Cronofarmacología. Cronofarmacocinética. Cosmofarmacología.

ASPECTOS MOLECULARES Y FISICOQUIMICOS

- Dimensión molecular
- Polaridad-Hidrosolubilidad - D - conciente ON/C
- Apolaridad-Liposolubilidad - ND
- $KD = \text{Líp}/H_2O$
- pKa
- Quilaridad-Enantiomeridad. Relación Eudísmica.
- Grado de afinidad por tejidos: Adiposo, Muscular.

		Kd (L/H ₂ O)	Fármaco orina
Liposoluble NDApolar	Propranolol (B ₁ B ₂)	5,4	Fel < 0,01%
P - A	Metopropol (B ₁)	0,15	3%
Hidrosoluble D Polar	Atenolol (B ₁)	0,003	40%

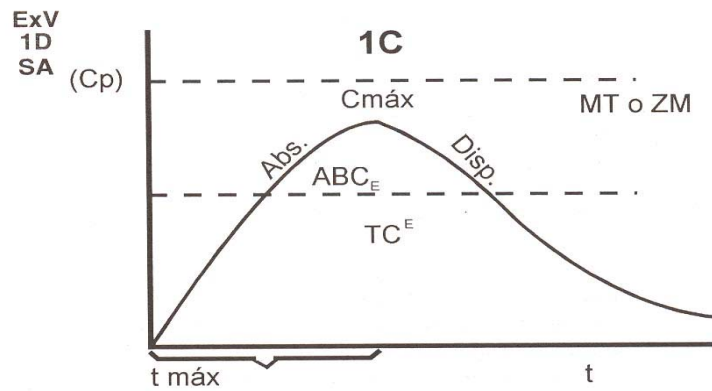
$$pKa = pH \frac{ND \ 50\%}{D \ 50\%}$$

Organo	pH
Boca	7,2 - 7,4
Estómago	2,0
Duodeno	5,6
Intestino delgado	7,2
Recto	7,8
Leche	6,6
Orina* (4,4 - 8,0)	6,3

* Dieta dependiente

PARAMETROS IMPORTANTES EN LA EVALUACION DEL FARMACO

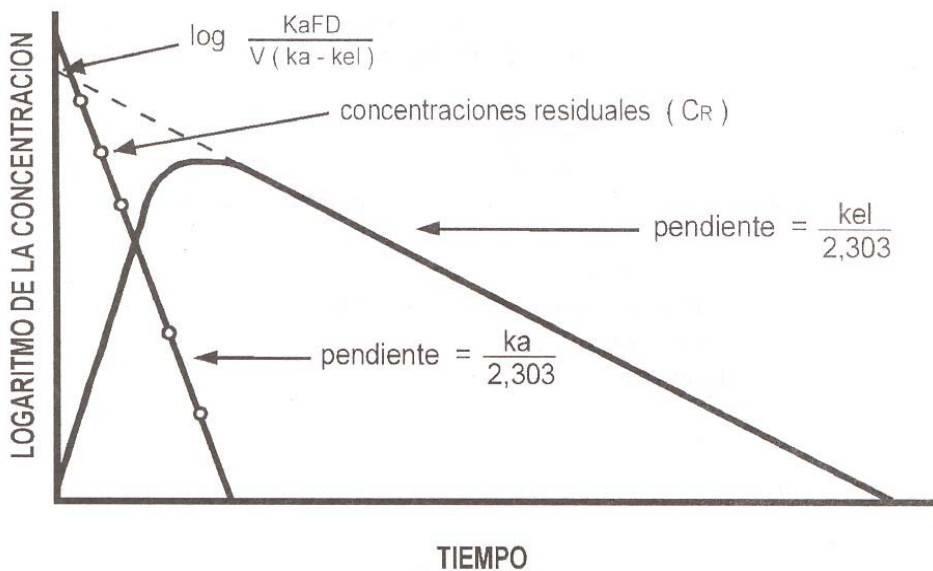
- C_{máx} Concentración máxima
- TCE Tiempo de cubierta efectiva
- ABCE Area bajo la curva efectiva (más importante que la clásicamente estudiada)
- t_{máx} Tiempo máximo
- MT Margen terapéutico o zona manejable
- C_p Concentración plasmática
- CL_t Clearante total o depuración



$$C_p = (B \cdot e^{-k_{el} \cdot t}) - (A \cdot e^{-k_a \cdot t})$$

$$A / d \cdot t = \underbrace{-k_{el}}_{CL_T} \cdot V_d \cdot C_p \cdot \int_0^{\infty} \sum_{ABC} e^{-a \cdot t} dt$$

Cantidad total Eliminada

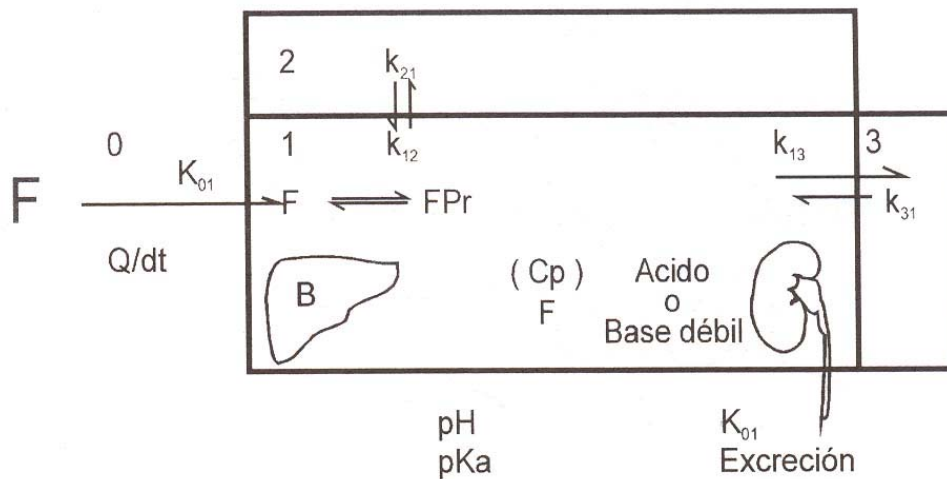


Cambios en las concentraciones plasmáticas en función del tiempo, después de la administración oral de un medicamento que confiere al organismo las características de un modelo con un compartimiento. Las pendientes de la fase de eliminación (--) y de las concentraciones residuales (-o-) reflejan las constantes de eliminación y de absorción, respectivamente.

La manera más precisa para calcular la pendiente es por análisis de regresión lineal. Si no se dispone de un programa, el valor de K_a puede estimarse gráficamente utilizando la relación entre la constante de absorción y la vida media de absorción ($t_{1/2 a}$).

$$K_a = \frac{0,693 \text{ (h}^{-1}\text{)}}{t_{1/2 a}}$$

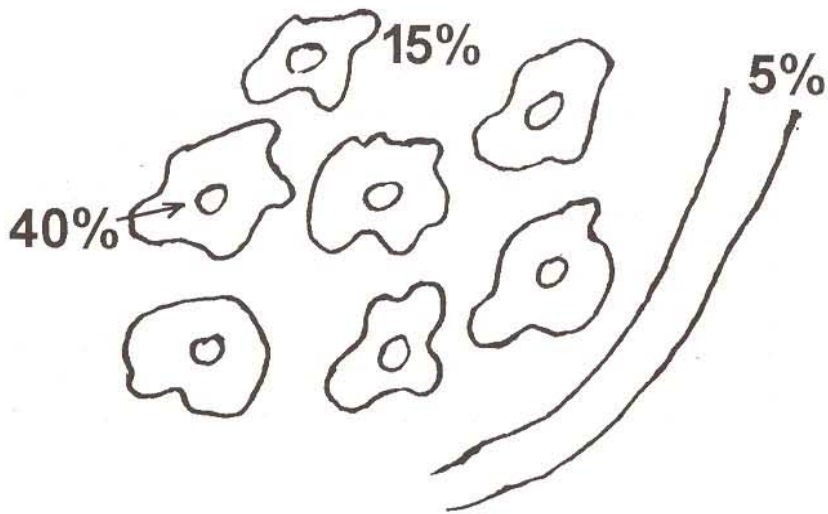
CINETICA DE COMPARTIMIENTOS



- 0 Compartimiento externo
- 1 Compartimiento plasmático
- 2 Compartimiento tisular en general
- 3 Compartimiento de la biofase con la que interactúa el fármaco
- K_{01} Constante de velocidad de ingreso al líquido plasmático
- K_{12} Constante de velocidad de ingreso a tejidos
- K_{21} Constante de velocidad de retorno al plasma
- F Fármaco libre
- FPr Fármaco unido a proteína
- (Cp) Concentración plasmática
- B Biotransformación
- Q/dt Cantidad de fármaco entre la derivada del tiempo

VOLUMEN DE DISTRIBUCION

Vd L/Kg

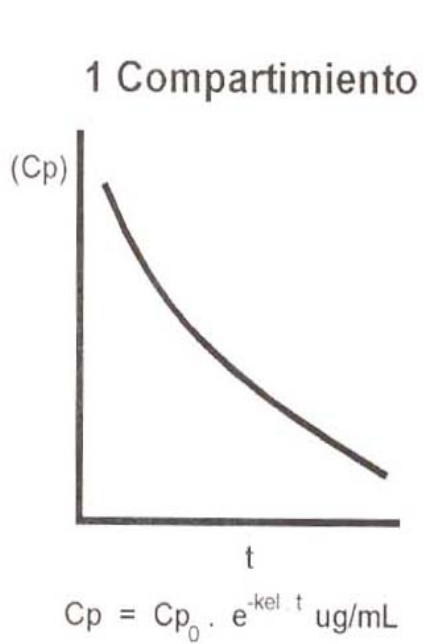


		L/70 Kg	L/kg
Líquido plasmático	5%	3,5	0,05
Líquido intercelular	15%	10,5	0,15
Líquido intracelular + Comp. celulares (Pr, Líp)	40%	28,0	0,40
		42,0	0,60

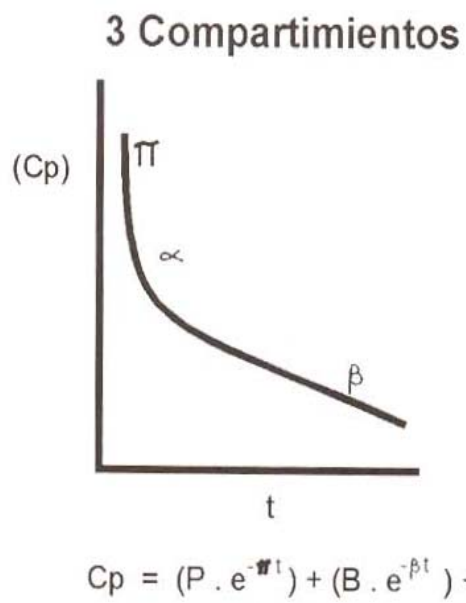
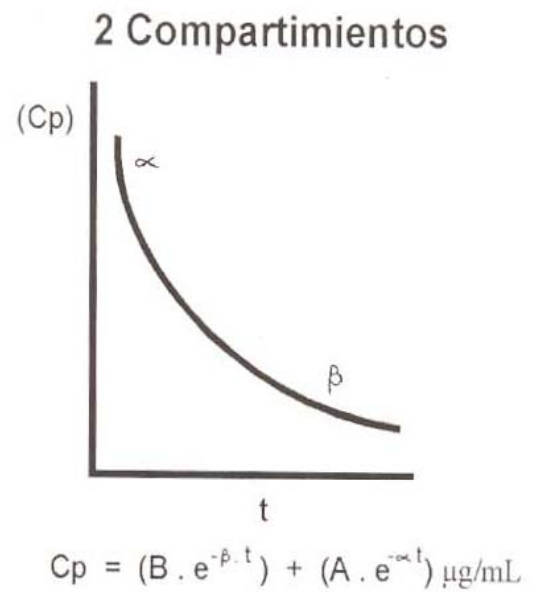
Fármaco	Vd L/kg
Digoxina	9,14
Gentamicina	0,25
Cefalosporinas	0,20 - 0,30

MODELOS DE CINETICA DE COMPARTIMIENTOS

I. Administración Intravascular (IV)



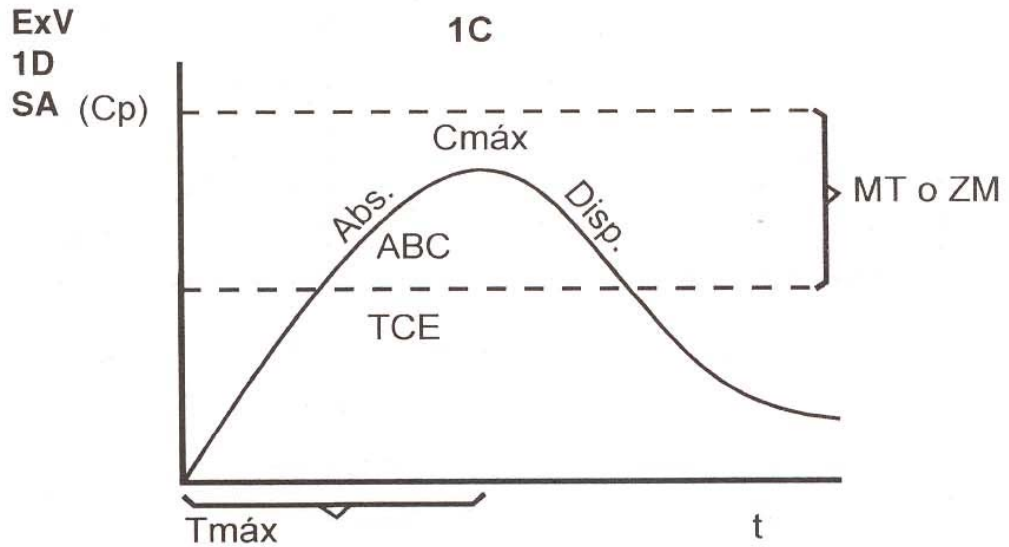
IV
1D
SA



2. Administración Extravascular (ExV)

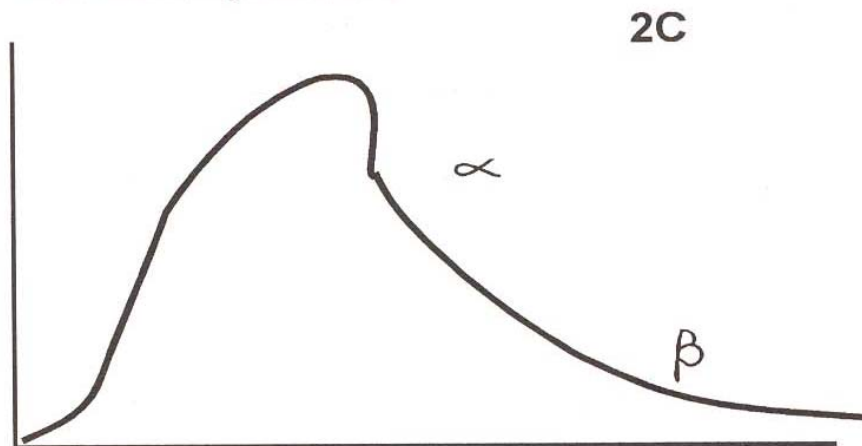
- **Modelo Monocompartimental**

- 1D dosis única
- 1C monocompartimental
- [Cp] concentración de fármaco en plasma
- SA sistema abierto



$$C_p = (B \cdot e^{-k_{el} \cdot t}) - (Ae^{-k_a \cdot t})$$

- **Modelo Bicompartimental**



$$C_p = (B \cdot e^{-\beta t}) + (A \cdot e^{-\alpha t}) - (C_{p_0} \cdot e^{-k_a \cdot t})$$

MODELO DE APLICACION DE PARAMETROS FARMACOCINETICOS

- **Para una dosis**

$$\text{IV} \quad D_{\text{IV}}^* = C_{p_d} \times V_d$$

$$\text{ExV} \quad f D_{\text{ExV}}^* = C_{p_d} \times V_d$$

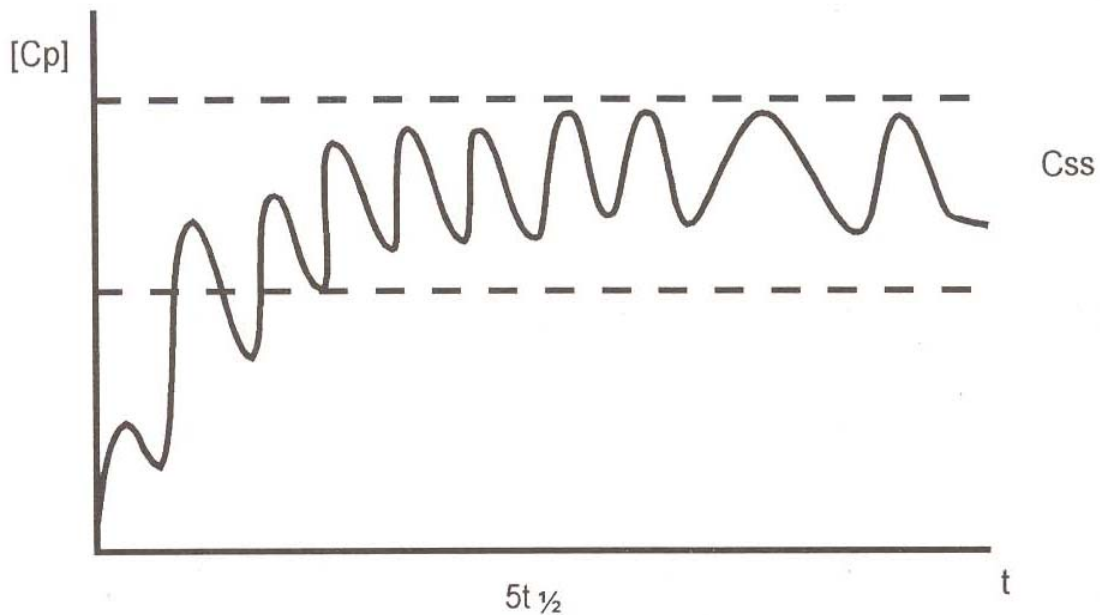
$$\text{IV} \quad D_{m_{\text{IV}}} = C_{p_d} \times CL_T$$

$$\text{ExV} \quad f D_{m_{\text{ExV}}} = C_p \times CL_T$$

- **Para una dosis**

$$C_{ss} = \frac{fD}{V_d \cdot k_{el} \cdot CL_T}$$

$$fD = C_p \cdot CL_T$$



C _{ss}	Concentración promedio estable
D _{IV}	Dosis carga intravascular
C _{p_d}	Concentración plasmática deseada
V _d	Volumen de distribución
fD	Fracción de la dosis extravascular absorbida.

FARMACOS E INSUFICIENCIA RENAL

1. Fármacos con depuración predominantemente renal
2. Retención : $CL_{Cr_s} < 50\%$
3. Devenir biológico a partir de 25 años
 - 1% por año. Ejemplo 75 años - 25 = -50%
 - 1 mL/min./1,73 m² por año
4. Desgaste fisiológico + Patología
5. Factores de ajuste

$$C_{rs} \quad \hat{D} = \frac{D}{C_{rs}} \quad \hat{\tau} = \tau \times C_{rs}$$

$$CL_{Cr_{s(Kf)}} \text{ relativo} = \frac{CLCr \text{ real}}{CLCr \text{ normal}}$$

$$fad = \frac{1}{FeI (Kf - 1) + 1}$$

$$\hat{D} = \frac{D}{fad} \quad \hat{\tau} = \tau \times fad$$

6.

$$CL_{Cr_{s \text{ estimado}}} = \frac{(140 - \text{edad}) \times \text{peso (Kg)}}{72 \times C_{rs}} = \text{mL/min./1,73 m}^2$$

(Cokroft y Gaulp)

$$\text{♀} \times 0,9$$

ABW	$r = 0,576$	$p = 0,0007$
LBW	$r = 0,592$	$p = 0,0005$

- | | | | | |
|----|---|------------|----------------------------|------------------------------|
| 7. | $CL_{Cr_s} = 93,3 - 1,8$
p (Edwards-Whyte) | ABW
LBW | $r = 0,596$
$r = 0,626$ | $p = 0,0004$
$p = 0,0002$ |
|----|---|------------|----------------------------|------------------------------|

TABLA 3:
Coefficiente de correlación de Pearson y t pareado de las diferencias
entre Promedio medido y estimado del Clearance de Creatinina

Pearson Producto-Momento			Prueba t Pareado			Error promedio	Promedio de la raíz cuadrada del error
Método	Correlación (r)	Probabilidad (p)	Diferencia Promedio (f)	Valor (t)	Probabilidad (p)		
1A	0.576	0.0007	2.1	0.73	0.4699	8.71 E-15	14.69
1B	0.592	0.0005	5.6	2.06	0.0478	8.02 E-15	14.48
2A	0.577	0.0007	9.8	3.59	0.0012	8.94 E-15	14.68
2B	0.594	0.0004	12.8	4.84	0.0001	3.21 E-15	14.45
3	0.469	0.0078	-25.0	-6.86	0.0001	1.46 E-14	15.87
4A	0.597	0.0004	-16.9	-5.46	0.0001	1.26 E-14	14.20
4B	0.621	0.0002	-12.1	-4.23	0.0002	8.939 E-15	14.09
5A	0.579	0.0006	-0.4	-0.12	0.9018	1.08 E-14	14.65
5B	0.596	0.0004	3.3	1.22	0.2336	9.40 E-15	14.43
6	0.464	0.0086	-15.7	-4.40	0.0001	1.13 E-14	15.92
7A	0.578	0.0007	-0.8	-0.27	0.7881	1.14 E-14	14.67
7B	0.593	0.0004	2.9	1.05	0.3010	1.01 E-14	14.47
8A	0.372	0.0392	-24.3	-7.44	0.0001	1.12 E-14	16.68
8B	0.434	0.0146	-19.0	-6.35	0.0001	5.50 E-15	16.18
9A	0.596	0.0004	-21.7	-7.07	0.0001	1.0543 E-14	14.42
9B	0.626	0.0002	-16.6	-5.91	0.0001	9.855 E-15	14.00

HOJA DE TRABAJO PARA EVALUACION CLINICA FARMACOCINETICA

Paciente : Droga : Fecha :
 Peso corp. (Kg): Dosis (mg) : T (h) :
 H (cm) : Clcr (ml/min/1.73m²) : Scr (mg/100 ml) :
 Edad (y) : Sexo :

NUMERO DE TERMINOS EXPONENCIALES Y RUTA DE ADMINISTRACION (en el modelo del () compartimientos)				
PARAMETRO	1-I.V. (1)	2-E.V. (1)	2-I.V. (2)	3-E.V. (2)
C(O) [masa/vol.]	B =	B =	B+A=	B+A=
B [masa/vol.]	B =	B =	B =	B =
A [masa/vol.]		A = B =	A =	A =
t ½ (tiempo)				
t ½ α (tiempo)				
t ½ β (tiempo)				
ke (1/tiempo)				
ka (1/tiempo)				
β (1/tiempo)				
α (1/tiempo)				
t máx. (tiempo)	0		0	
C máx. (masa/vol.)	C(O)=		C(O)=	
AUC (0-∞) [(masa/vol.) . tiempo]	B/ke =	B/ke-A/ka=	B/β+A/α=	B/β.A/α-c(0)/ka=
Cl tot [vol/tiempo]	D/AUC(0-∞)		D/AUC(0-∞)	
Cl tot/F [vol/tiempo]		D/AUC (0-∞)		D/AUC (0-∞)
Vd [volumen]	Cl tot/F/ke=		Cl tot/F/β=	
Vd/F [volumen]		Cl tot/F/ke=		Cl tot/F/β=
Vd [vol/kg]	Vd/BW=		Vd/BW=	
Vd/F [vol/kg]		Vd/BW=		Vd/BW=

Ecuaciones usadas :

$$C(O)=(D.F)/Vd$$

$$C(O)=C_{ss} \max/AC$$

$$D = C(O).Vd$$

$$D = (C(O).Vd) / F$$

$$DM_{new} = (C_{ss} \max \text{ des.} DM \text{ old})/C_{ss} \max \text{ found}$$

$$DM_{new} = (C_{ss} \min \text{ des.} DM \text{ old})/C_{ss} \min \text{ found}$$

$$DL=DM.AC$$

$$F = (AUC(0-\infty)_{iv} \cdot D_{iv}) / (AUC(0-\infty)_{iv} \cdot DEV)$$

$$EBA = (AUC(0-\infty)_{test} / AUC(0-\infty)_{standard}) \cdot 100$$

CAPÍTULO IX

DISEÑO DE PRUEBAS DE BIODISPONIBILIDAD

Dr. Renán Manrique Mejía

DISEÑO DE PRUEBAS DE BIODISPONIBILIDAD

Dr. Renán Manrique Mejía

BIODISPONIBILIDAD (Aproximaciones)

1. Velocidad de disolución (estándar) “in vitro”
2. Velocidad de disolución en líquidos fisiológicos simulados “in vitro”
3. Curva de concentraciones en el tiempo. Dost, F.H.
Plasma. Orina. Saliva.
4. Farmacodinámica : (Biodisponibilidad en Biofase). Tiempo de lactancia. Intensidad. Duración.
5. Estudio de ciertos efectos clínicos: Broncodilatadores.

MONITOREO DE MEDICAMENTOS

Cuando:

1. El efecto farmacológico está directamente relacionado con las concentraciones plasmáticas.
2. Existe un estrecho margen terapéutico.
3. El efecto del fármaco es difícil de medir.
4. El fármaco tiene una cinética dependiente de la dosis.
5. Son administrados con fines profilácticos.
6. Sus efectos indeseables son difíciles de diferenciar de los síntomas de la enfermedad.
7. La absorción, distribución y eliminación del fármaco presentan pronunciada variabilidad interindividual.
8. La cinética del fármaco está modulada en gran parte por factores genéticos.

La consideración cuidadosa de la relación entre los efectos farmacológicos y la concentración plasmática de los fármacos en voluntarios sanos, puede entregar información muy pertinente con respecto a los efectos observados en el uso terapéutico. La Figura 1 muestra un ejemplo particularmente interesante.

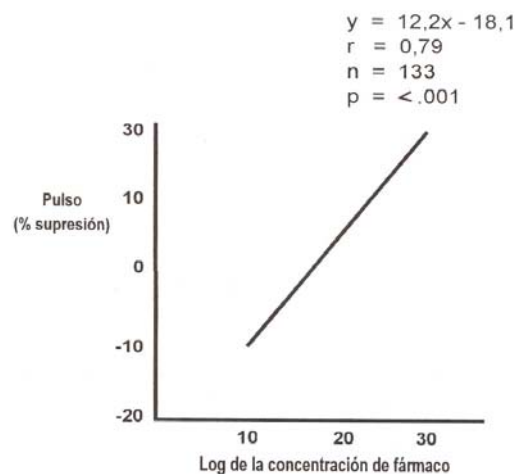


Figura 1: Relación entre el logaritmo de la concentración plasmática de bevantolol y el porcentaje de reducción de la frecuencia cardíaca post-ejercicio en seis voluntarios sanos. (Datos de McNeil y Cols.)

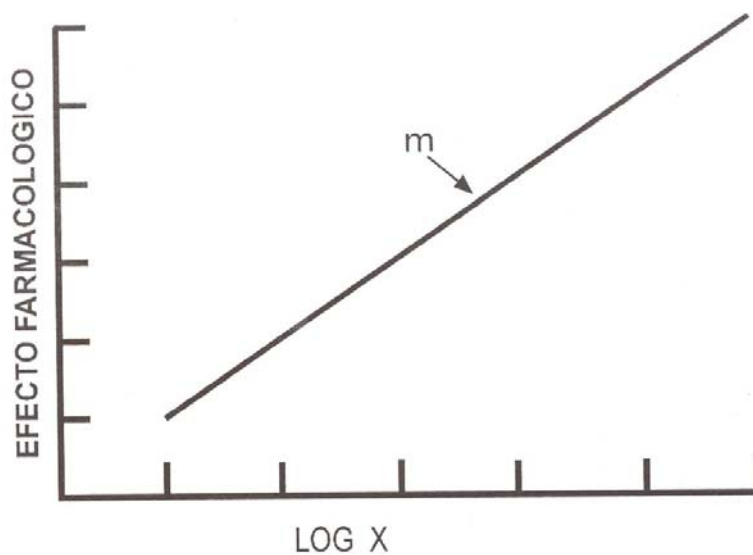


Figura 2: Relación entre el efecto farmacológico y el logaritmo de la cantidad de medicamento en el organismo (X). La pendiente es definida por m.

CAPÍTULO X

MESA REDONDA

ROL DE LAS PRUEBAS FARMACOLOGICAS EN EL CONTROL DE CALIDAD

RIESGO DE LA MEDICACION EN LA PRODUCCION PECUARIA

*Dr. Ramón Zaldivar S.
Colegio Médico Veterinario de Lima.*

RESUMEN

El uso de fármacos en la industria pecuaria productora de alimentos exige como condición básica el establecimiento de un equilibrio entre lo que con ciería a la economía, eficiencia y seguridad del medicamento. Poco se puede esperar de una droga barata si no provee beneficio a la motivación de su empleo e inversamente no es de esperar su adquisición si ella tiene un elevado precio, pese a sus bondades terapéuticas. Es poco, sin embargo, lo que se juzga respecto a su seguridad, tanto que parecería suficiente conocer que el producto es bueno, que se soslaya el riesgo en cuanto a su persistencia en el ambiente o cuerpo del animal. Se trata así, en líneas generales de utilizar antimicrobianos o antiparasitarios para enfrentar la permanente amenaza de enfermedades propias del medio o de probable transmisión por vías comerciales actuales. Sin embargo, por razones de control de calidad es costumbre ofrecer a los animales en el alimento, promotores de crecimiento (promotores de producción). Las respectivas drogas, por mal manejo, por desconocimiento malicioso de su farmacocinética o por razones enteramente comerciales, condicionan peligrosos depósitos en el ambiente y residuos en tejidos u órganos comestibles por el hombre y mascotas, con las negativas consecuencias que todos conocemos.

Para llegar a esta situación es necesario explicar el proceso productivo pecuario. Así podemos advertir que el propósito fundamental de la producción pecuaria es el mayor o mejor rendimiento de los animales bajo explotación; para ello en menester proporcionarles dieta balanceada, ambiente apropiado y especial manejo zootécnico. La dieta exige entonces contar con insumos de excelente calidad, libre de contaminantes de naturaleza química o biológica (toxinas, plaguicidas, hongos, etc), agua potabilizada y en cantidad suficiente y el alimento medicado necesario, según los casos (anticoccidiales, promotores de crecimiento, antihelmínticos, antimicrobianos, etc). El ambiente requiere de edificaciones e instalaciones idóneas que den el confort necesario para la máxima producción sin propiciar cuadros estresantes por mal diseño, materiales inadecuados o deficiente mantenimiento; todo esto hace posible afrontar positivamente la severidad de los climas. En cuanto al manejo, es norma elemental establecer oportunamente el programa de vacunaciones especialmente contra virosis; de la misma manera un programa de desinfección adecuado para el tipo de explotación que se lleva y finalmente estudiar cuidadosamente las fluctuaciones del mercadeo de productos pecuarios, para protegerse de las consecuencias negativas de la sobreproducción especialmente aquellas que repercuten en la economía del negocio y en el cuidado y mantenimiento de la salud de los animales en línea de producción. En este panorama, hablar de rendimiento es sinónimo de producto acabado, el cual tanto en mamíferos como en aves, es importante ofrecerlo con la mejor calidad posible; ello presupone estar libre de riesgos para el consumidor tanto al momento de su adquisición como durante su almacenamiento o cocción. Aquí es donde surge el gran riesgo del uso de fármacos en las industrias pecuarias, pues en nuestro país no se cuenta con dispositivos legales que obliguen o normen el uso coordinado de fármacos o productos biológicos fomentándose así la existencia de reservorios infecto-contagiosos y pérdidas económicas para el granjero, ganadero o para el país. Por otro lado existe el problema de la inmoderada dosis terapéutica que se ofrece al capital pecuario cuando determinada droga (barata o tradicional) ya no es efectiva y se eleva su concentración para suplir esta deficiencia, siendo así presumible su mayor depósito en el organismo animal, con el agravante de no haberse legislado el período de retiro de las drogas de animales productores de alimentos y ser de relativa seguridad la vigencia de normas sobre el uso de plaguicidas. Es acá entonces donde se destaca la significación e importancia de las pruebas farmacológicas como basamento científico, con el cual se ilustra a los organismos legisladores y ejecutores de nuestro país, sobre la trascendencia de este importante tema en el control de la calidad de los alimentos.

CONTROL DE CALIDAD DE PLANTAS MEDICINALES

*Dra. Zoila Sánchez de van Oord
Sistema de Información Científica
Antonio Raimondi "Sicar"*

El control de calidad debe ser total desde la siembra, el cultivo, el abono, el no uso de los plaguicidas sintéticos sino vegetales ejemplo: hierba luisa, cola de caballo (nicotina) hasta el tiempo en que se puedan aplicar y la época de recolección, etc.

En cuanto al proceso de producción se debe hacer en establecimientos farmacéuticos con autorización de apertura y funcionamiento, así como las distribuidoras y expendios minoristas de los RECURSOS TERAPEUTICOS NATURALES, en todos estos lugares se debe exigir la presencia del profesional Químico - Farmacéutico como profesional responsable.

EL CONTROL DE CALIDAD TOTAL INCLUYE:

1. Nombre Botánico y Nombre común.
2. Verificación Botánica de la identidad de la planta (materia prima).
3. Componentes principales, composición porcentual y ensayos de estabilidad y biodisponibilidad para los productos naturales de uso directo.
4. Control de calidad de la materia prima entregada al Departamento de Producción.
5. Control de calidad de la Forma Farmacéutica preparada y composición por unidad posológica.
6. Control de calidad en la base de producción.
7. Control de calidad en la especialidad terminada y en almacén.

CONTROL DE CALIDAD EN LA ESPECIALIDAD TERMINADA

1. **Evaluación física de sus caracteres:**
 - a) Morfológicos
 - b) Histológicos
 - c) Componentes biológicos activos
2. **Evaluación química de sus componentes** (límites aceptables).
3. **Control Físico Químico**
 - a) Análisis de potencia y estabilidad
 - b) Análisis del Batch
 - c) Equipos: Potenciómetros, reactómetros, etc.
4. **Control Microbiológico**
 - a) Recuento de microorganismos aeróbicos (bacterias), recuento de bacterias de **Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomona aeruginosa, Salmonellas.**
 - b) Recuento de hongos
 - c) Levaduras

5. Control Farmacológico

- a) Estudios farmacocinéticos
- b) Pirógenos

6. Control Toxicológico

- a) Residuos de plaguicidas
- b) Determinación de Arsénico y metales pesados
- c) Radiación
- d) Determinación de aflatoxinas.

PRUEBAS FARMACOLOGICAS EN CONTROL DE CALIDAD

*Dra. Alicia Darg Barbieri
Colegio Químico Farmacéutico del Perú*

RESUMEN

Los productos farmacéuticos: medicamentos y material médico quirúrgico, son analizados mediante pruebas físico-químicas y microbiológicas para determinar el cumplimiento de sus especificaciones, pureza, contenido y características físicas, pero de acuerdo a su vía de administración requiere el empleo de pruebas más delicadas realizadas en organismos vivos (animales) que indiquen el comportamiento de estos preparados y la reacción que pueda tener el organismo frente a ellas.

Los textos oficiales indican las pruebas de irritabilidad ocular para las preparaciones oftálmicas, irritabilidad cutánea para las cremas y ungüentos, pirógenos para las preparaciones parenterales.

La reacción positiva en los animales de experimentación indica deficiencias en el proceso de manufactura, partículas extrañas en los preparados o calidad inadecuada de los ingredientes de la fórmula ya sea el mismo principio activo o los materiales de la formulación o del envase que los contiene.

En un grupo de drogas que básicamente son de origen natural se mide la potencia de ellas por determinados efectos que producen en animales de experimentación, por ejemplo la insulina, la oxitocina, vasopresina, usando como referencia un estándar.

La seguridad y la toxicidad de determinados productos como los anestésicos constituyen pruebas críticas para su aprobación.

Como los animales son el factor más importante en estas pruebas, estos deben ser adecuadamente elegidos.

Los laboratorios que realizan ensayos tienen desventajas como:

- a. Su sensibilidad en las determinaciones cuantitativas están por debajo de la obtenida en los ensayos químicos.
- b. De acuerdo a los operadores pueden variar la interpretación de las operaciones de cálculos que son bastantes complicados.
- c. En muchos casos el efecto medido no es el que va a producir la droga en el paciente.

Asimismo en un producto natural existen muchos otros principios que producen una acción terapéutica mayor que el que se está ensayando.

La realización de estos ensayos requiere mucha habilidad del operador, en la parte experimental y la adopción de métodos de cálculo basados en observaciones de efectos relativos pero no necesariamente iguales.

La mayoría de los laboratorios que necesitan de estas pruebas conocen el alto costo de la infraestructura, materiales, personal capacitado, y de acuerdo al volumen y frecuencia de sus necesidades es más seguro, derivarlos a centros especializados.

Esta publicación se terminó de imprimir
en Enero de 1997 en los
Talleres Gráficos de Art. Lautrec S.R.Ltda.
Av. Paseo de la República 731 - Lima 13
Telfax 423-7616