



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE
MÉXICO**

**MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN
Y DE LA SALUD ANIMAL**

**CINÉTICA Y EFECTO DEL FOSFATO SÓDICO DE DEXAMETASONA EN LOS
PARÁMETROS DEL LÍQUIDO DE LA ARTICULACIÓN RADIO-CARPAL DE
CABALLOS, RADIOGRÁFICA Y BIOMECÁNICAMENTE SANOS**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

RAÚL CARABALLO GUEVARA

TUTOR: MVZ MSc ALEJANDRO RODRÍGUEZ MONTERDE

COMITÉ TUTORAL: MVZ MSc RENE ROSILES MARTÍNEZ

DRA AURORA BELMONT GOMEZ

COLOABORADOR INVITADO: MVZ M EN C ENRIQUE NÚÑEZ HERNÁNDEZ



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, ya que sin su apoyo y dedicación no estaría donde estoy ahora.

A mis padres por su paciencia, entrega y devoción, por permitirme seguir mi sueño.

A los Búfalos Mojados les agradezco eternamente su amistad y el compartir conmigo mis triunfos y derrotas.

Fer.- Gracias por estar a mi lado y por haberme dado tantos momentos de felicidad, sabes que siempre estaré para ti amor.

Lucha.- Mi compañera de toda la carrera gracias por tu apoyo y por aguantarme como nadie, sigue tus sueños.

A MIS MENTORES

- Enrique Núñez Hernández.- Gracias por tu amistad y por tu sabiduría, estoy seguro que algún día te pagare todo lo que has hecho por mi.

- Alejandro Rodríguez Monterde.- Gracias por esta gran oportunidad, por tus enseñanzas y regaños, pero principalmente por tu amistad.

- Rene Rosiles Martínez.- Gracias por tu tiempo, dedicación, entusiasmo y por creer en mí, sin tu apoyo esto no hubiera sido posible, gracias viejo.

- José Luis Velásquez.- Gracias por sacarme adelante, por enseñarme que la vida nos da más de lo que nos quita y a valorar cada día, gracias demonio.

Al departamento de Toxicología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Unam, por su gran apoyo y por hacer esta tesis posible, en especial al Dr. Rene Rosiles y al Dr. Janitzio Bautista.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por brindarme una educación invaluable.

A PISA por su apoyo y confianza, en especial al Dr. Miguel Ángel Zamora.

Agradezco a todas las personas que me ayudaron en mi formación profesional y en la realización de esta tesis, ya que sin ellas no hubiera llegado hasta aquí.

RESUMEN

CINÉTICA Y EFECTO DEL FOSFATO SÓDICO DE DEXAMETASONA EN LOS PARÁMETROS DEL LÍQUIDO DE LA ARTICULACIÓN RADIO-CARPAL DE CABALLOS, RADIOGRÁFICA Y BIOMECÁNICAMENTE SANOS

MVZ. Raúl Caraballo Guevara, MVZ MSc. Alejandro Rodríguez Monterde, MVZ MSc Rene Rosiles Martínez, MVZ M en C Enrique Nuñez Hernández, DRA Aurora Belmont Gómez.

En esta investigación se identificó la farmacocinética del fosfato sódico de dexametasona (FNaD) y el efecto cualitativo y cuantitativo sobre los parámetros del líquido sinovial en la articulación radio-carpal de caballos radiográfica y biomecánicamente sanos. Se seleccionaron 3 caballos, a los cuales se les administraron 3 diferentes dosis (16, 20 y 24mg), se logró con esto un estudio cruzado, manejándose un tiempo de retiro de 60 días entre cada dosis. Se colectaron muestras de líquido sinovial y de suero de cada animal al tiempo de muestreo 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8 y 16 postaplicación del FNaD y el agua bidestilada estéril, donde se evaluaron las características físicas, químicas y celulares las cuales fueron comparadas con la muestra inicial. Se utilizó una técnica modificada de Blackford para realizar la extracción y posteriormente se utilizó la Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución para la determinación y cuantificación del FNaD y de la dexametasona. Se encontró una diferencia estadísticamente significativa con una ($P < 0.05$) en la celularidad, las articulaciones a las cuales se les administró el fosfato sódico de dexametasona presentaron una disminución en la cantidad de células, en comparación con las testigo, en las cuales se observó un incremento considerable. El comportamiento del fosfato sódico de dexametasona en la articulación se adecuó a un modelo de dos compartimentos, presentando una fase de distribución denominada α y una fase de equilibrio y eliminación denominado β , la cual es transferida al plasma. Los datos cinéticos indican que la constante de vida media de eliminación (K_{elim_half}) es de 1.458 con un tiempo de residencia (Res T) de 6.14 h y un área bajo la curva (AUC) de 9.293 $\mu\text{g/ml}\cdot\text{h}$. La fase de distribución del fármaco (α) fue de 1.313/h con una constante de distribución ($K_{1,2}$) de 2.423/h y una fase de eliminación (β) de .160/h con una constante de eliminación ($K_{2,1}$) de 0.485/h.

Palabras Clave; Antiinflamatorios Esteroidales, Intra-articular, Cromatografía de líquidos de alta resolución.

ABSTRACT

PHARMACOKINETICS AND EFFECT OF DEXAMETHASONE SODIUM PHOSPHATE ON SINOVIAL FLUID PARAMETERS OF THE RADIO-CARPAL JOINT BIOMECHANICALLY AND RADIOGRAPHICALLY HEALTHY HORSES. MVZ. Raúl Caraballo Guevara, MVZ MSc. Alejandro Rodríguez Monterde, MVZ MSc Rene Rosiles Martínez, MVZ M en C Enrique Nuñez Hernández, DRA Aurora Belmont Gómez.

The aim of this study was to determine the pharmacokinetics of Dexamethasone Sodium Phosphate (DSP) and the qualitative and quantitative effect on the sinovial fluid parameters in the radio-carpal. Three healthy horses were selected for this study, each horse received three different dosage (16, 20 and 24 mg) creating with this a crossover study. Sinovial fluid and blood samples were collected at 0.25, 0.5, 1, 2, 4 and 8 hr. post treatment. These samples were used to evaluate the cellular and physicochemical characteristics of the sinovial fluid, comparing this parameters with the basal values. DSP extraction was done using a modified Blackford technique. Quantification and determination was done using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). A statistical difference was found in the cellularity ($P < 0.05$) when the joints injected with DSP were compared with the ones injected with sterile water. DSP in the joint behave like a two compartment model presenting a distribution phase α and a redistribution and elimination phase β . The elimination half-life was 1.458 h, residence time (Res T) was 6.14 h and the area under the curve (AUC) was 9.293 $\mu\text{g}/\text{ml}\cdot\text{h}$. Distribution rate (α) of 1.313/h with a distribution constant ($K_{1,2}$) of 2.423/h and a elimination rate (β) of (β) with a elimination constant ($K_{2,1}$) of 0.485/h.

Key Words; Steroidal Anti-inflammatories, Intra-articular, High performance liquid chromatography.

CONTENIDO.	PÁGINA
Agradecimientos	I
Resumen	III
Abstract	IV
Contenido	V
1.- INTRODUCCIÓN	1
2.- REVISION DE LA LITERATURA	2
2.1.-ANTECEDENTES	2
2.2.- ESTRUCTURA QUÍMICA	3
2.3.- MECANISMO DE ACCIÓN	3
2.4.- FARMACOCINÉTICA	4
2.5.- EFECTOS ADVERSOS DE LOS CORTICOESTEROIDES EN LAS ARTICULACIONES	5
2.6.- CLASIFICACIÓN DE LAS ARTICULACIONES	5
2.7.- ARTICULACIONES SINOVIALES	5
2.8.- ESTRUCTURA Y FUNCIONAMIENTO DE LAS ARTICULACIONES SINOVIALES	6
2.9.- CONDRÓGENESIS	11
2.10.- CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN	13
3.- FACTORES ENCARGADOS DE LA DEGRADACIÓN ENZIMÁTICA DE LA MATRIZ DEL CARTÍLAGO ARTICULAR	13
3.1.- OSTEOARTROSIS	13
3.2.- DEGENERACIÓN DEL CARTÍLAGO ARTICULAR	15
3.3.-METALOPROTEINASAS	15
3.4.- INHIBIDORES DE LAS METALOPROTEINASAS	16
3.5.- CITOCININAS	16
3.6.- RADICALES LIBRES DE O₂	17
3.7.- PROSTAGLANDINAS	17

4.- JUSTIFICACIÓN	18
5.- OBJETIVOS	19
6.- HIPÓTESIS	19
7.- MATERIAL Y MÉTODOS	19
7.1.- ESTUDIO PILOTO	20
7.2.- TRABAJO DE CAMPO	20
7.3.- EVALUACION DEL LÍQUIDO SINOVIAL	21
7.4.- TEMPERATURA DE LA PIEL	22
7.5.- EVALUACIÓN POST – APLICACIÓN	23
7.6.- DETERMINACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DEL FOSFATO SÓDICO DE DEXAMETASONA Y DEXAMETASONA	23
7.6.1.- Preparación de los Estándares	23
7.6.2.- Calibración de la Curva Estándar	24
7.6.3.- Determinación de la Longitud de Onda por medio de la Espectrofotometría de Rayos UV	24
7.6.4.- Características Instrumentales del CLAR	24
7.6.5.- Almacenamiento de la Muestras	25
7.6.6.- Extracción del Fosfato Sódico de Dexametasona y Dexametasona	25
7.6.7.- Porcentaje de Recuperación <i>in Vitro</i>	26
7.6.8.- Análisis Estadístico Descriptivo e Inferencial	26
7.6.9.- Análisis Farmacocinético por el pK Analist	26
8 RESULTADOS	28
8.1.- VALIDACIÓN DEL MÉTODO	28
8.2.- RESULTADOS DE LOS DATOS DE LAS VARIABLES	30
8.3.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO	33
8.4.- FARMACOCINÉTICA	35

9 DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	37
10 LITERATURA CITADA	43
11 FIGURAS	51
12 CUADROS	83

CINÉTICA Y EFECTO DEL FOSFATO SÓDICO DE DEXAMETASONA EN LOS PARÁMETROS DEL LÍQUIDO DE LA ARTICULACIÓN RADIO-CARPAL DE CABALLOS, RADIOGRÁFICA Y BIOMECÁNICAMENTE SANOS

1.- INTRODUCCIÓN

Los caballos han sido animales sumamente útiles para el hombre, en el pasado eran utilizados como transporte y como fuerza de trabajo. Hoy en día el caballo es considerado como un animal de compañía y en ciertas partes de México (áreas rurales) se sigue utilizando como fuerza de trabajo. Debido a esto es importante mantenerlos en óptimas condiciones, sin embargo muchas veces esto no es sencillo debido a que son sometidos a trabajos físicos extenuantes, generando un excesivo desgaste de las articulaciones causando inflamación y degeneración articular, la cual se presenta como enfermedad articular degenerativa (EAD).

La EAD es un desorden crónico que se presenta en las articulaciones sinoviales y se caracteriza por el deterioro progresivo del cartílago articular. En la mayoría de los casos el tratamiento se basa en la aplicación de anti-inflamatorios esteroidales con el fin de disminuir la inflamación y ayudar a esa articulación, brindando una pronta analgesia. Sin embargo esto ha fomentado el uso desmedido y el mal uso de los mismos, lo cual conlleva a una mayor destrucción del cartílago articular.¹

Al administrar el anti-inflamatorio por vía intra-articular brinda un efecto local, que minimiza los efectos secundarios causados por los anti-inflamatorios sistémicos.²

Las glándulas suprarrenales se encuentran situadas en los polos anteriores de los riñones, y cada una de ellas desde el punto de vista histológico esta constituida por dos partes: la médula y la corteza adrenal.^{3,4,5} La corteza esta constituida por tres zonas o capas:

La capa glomerular es la encargada de secretar mineralocorticoides (aldosterona, desoxicorticosterona y corticosterona), la capa fascicular libera glucocorticoides (cortisol, hidrocortisona y cortisona) y la capa reticular libera y sintetiza esteroides sexuales (testosterona y progesterona). Dentro de la familia de los glucocorticoides se encuentra el cortisol y la hidrocortisona, los cuales poseen un efecto anti-inflamatorio benéfico pero de

baja intensidad. Esto ha llevado a la producción de corticoesteroides sintéticos más potentes como el fosfato sódico de dexametasona.^{4,5,6,7}

2.- REVISION DE LA LITERATURA

2.1.-ANTECEDENTES

Los corticoesteroides son fármacos que se utilizan en medicina veterinaria por un sin fin de razones. Se reporto su uso por primera vez en caballos en 1955.^{9,10} Hoy en día son utilizados como anti-inflamatorios y anti-alergénicos.^{1,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14} Debido a que poseen un poderoso efecto anti-inflamatorio,¹⁵ antiartrítico y de supresión del dolor. Los corticoesteroides son ideales en el tratamiento de enfermedades músculo esqueléticas.^{16,17}

Los corticoesteroides como el fosfato sódico de dexametasona son considerados pro-drogas, ya que es necesario la biotransformación por medio de la hidrólisis para que se libere la parte activa de estos. Debido a esta condición su efecto esta limitado al grado de hidrólisis.^{8,13}



La dexametasona es un corticoesteroide sintético^{1,6,7,11,15,16,18} 20 a 25 veces más potente que los corticoesteroides naturales (cortisol),^{7,19,20} el cual se administra comúnmente en los equinos por vía intramuscular, intravenosa o intra-sinovial en dosis que van desde 2.5 hasta 25 mg por animal. Es importante mencionar que esta no tiene reacción cruzada con el cortisol.²¹

2.2.- ESTRUCTURA QUÍMICA

Dexametasona: *9-fluoro-11 β ,17,21-trihydroxy-16 α -methylpregna-1,4-diene-3,20-dione*.^{22,23} Al igual que los demás corticoesteroides la dexametasona presenta una estructura base de 21 átomos de carbono, es importante mencionar que los corticoesteroides sintéticos como el fosfato sódico de dexametasona y la metil prednisolona son modificados para mejorar su actividad anti-inflamatoria^{1,7,10} (Ver Figura 1)

2.3.- MECANISMO DE ACCIÓN

Este se basa principalmente en la inhibición de la fosfolipasa A₂, enzima que causa la transformación de los fosfolípidos de la membrana celular en ácido araquidónico, y este a su vez en prostaglandinas, las cuales son compuestos vasoactivos que generan vaso dilatación y edema. Por lo tanto la dexametasona inhibe la quimiotaxis y la adhesión de los neutrófilos al endotelio vascular, también inhibe los depósitos de fibrina, la vasodilatación, la migración de los leucocitos al área inflamada, la actividad fagocítica la proliferación de los fibroblastos y el depósito de colágeno.^{19,20} Al mismo tiempo mejora la cantidad y polimerización del ácido hialurónico.²¹ Estudios in-Vitro han demostrado que estimula la condrogénesis, pero su efecto exacto se desconoce.²⁴ (Ver Figura 2 y 3)

Los neutrófilos, monocitos, linfocitos y eosinófilos, presentan receptores específicos para los glucocorticoides, mineralocorticoides, andrógenos y estrógenos. En el caso de los glucocorticoides estos receptores se originan en el núcleo de las células antes mencionadas y ante la presencia de glucocorticoides migran al citoplasma para unirse a estos. Los glucocorticoides pasan a través de la membrana celular por medio de la difusión facilitada, gracias a su pequeño tamaño y su naturaleza lipofílica. Dentro del citoplasma se unen a los receptores citosólicos (GR α). Esta unión genera la liberación de una hormona llamada proteína de choque térmico 90 (HSP 90) la cual permite la dimerización del receptor lo cual favorece la movilización del glucocorticoide con su receptor al interior del núcleo, donde se unen a los elementos de respuesta de los glucocorticoides de varios genes (GRE). En este sitio alteran su expresión y estimula la formación de Lipocortina (proteína), la cual inhibe la actividad de la Fosfolipasa A₂ y con ello la producción de nuevos mediadores inflamatorios por la ruta de las lipoxigenasas y cicloxigenasas.^{9,10, 24} Por otra parte los corticoesteroides también regulan la expresión de otros genes por medio de la interacción

con el factor P65 el cual inhibe la transcripción del NK-KB el cual promueve la formación de citocininas inflamatorias (IL-1, IL-6, FNT α). Es importante mencionar que la emisión de la respuesta del RNA mensajero después de la administración de los corticoesteroides, tarada aproximadamente 15 minutos, por lo tanto el efecto de permeabilidad vascular y la quimiotaxis son totalmente independiente a la síntesis de proteínas, ya que estos ocurren tan rápido que es imposible que sean un mecanismo de expresión génica. Por lo que se cree que los esteroides son capaces de unirse a receptores GABA_A y dopaminérgicos de las membranas plasmáticas.^{25,26} (Ver figura 3)

2.4.-FARMACOCINÉTICA

Los corticoesteroides se unen en un 75% a las proteínas plasmáticas, principalmente a una globulina llamada “transcortina”; otro 10 a 15% se une a la albúmina y el resto queda en forma libre. La unión es débil y reversible; cuanto más polar sea el compuesto, más débilmente estará unido sabiendo esto podemos considerar a la transcortina como un medio de transporte. Se unen a receptores en el hipotálamo y en la hipófisis inhibiendo por medio de retroalimentación negativa la liberación de ACTH. Estos se metabolizan principalmente en el hígado, aunque también sufren cierto grado de biotransformación en los tejidos en los que actúan. En hígado sufren una oxidación microsomal (reducidos) y después son conjugados, principalmente con ácido glucorónico y sulfatos, para ser finalmente excretados en forma polar no reabsorbible (forma hidrosoluble) en un 74% en orina y en un 25% en las heces fecales. En los túbulos renales, la forma libre no biotransformada se reabsorbe en un 80 a 90%.^{4,5,20}

Debido a la utilización de bajas dosis y la biotransformación aunada a sus características químicas genera ciertas dificultades para ser detectada.¹⁶

2.5.- EFECTOS ADVERSOS DE LOS CORTICOESTEROIDES EN LAS ARTICULACIONES

El uso prolongado y/o dosis altas de los corticoesteroides combinados con el ejercicio extenuante, pueden exacerbar el deterioro de la superficie articular. Las dosis altas inhiben la actividad anabólica, disminuyendo el metabolismo del cartílago articular, disminuyendo la síntesis de la matriz de condrocitos que forman el cartílago y la secreción de hialuronato. Estos no deben utilizarse en casos de sepsis o cuando se presenta una inestabilidad articular (ligamentos lesionados) ya que presenta un efecto inmunosupresor.²⁷

2.6.- CLASIFICACIÓN DE LAS ARTICULACIONES

Estas se clasifican de la siguiente forma:

- 1.- Articulaciones Fibrosas o Sinartrosis (No presentan Movimiento)
- 2.- Articulaciones cartilagosas o Anfiartrosis (Poco Movimiento)
- 3.- Articulaciones Sinoviales Diartrosis.- (Mucho Movimiento)⁹

2.7.- ARTICULACIONES SINOVIALES

La articulación es un órgano compuesto por sinovia, cartílago articular y hueso subcondral. Esta posee aporte sanguíneo, inervaciones e intercambio de líquidos, necesario para el buen funcionamiento y favorecer la locomoción.⁸ Estas tiene 2 funciones principales: la primera es activar el movimiento (1) y la segunda transferir la carga (2); es importante mencionar que la estructura y la composición, esta designada para facilitar las funciones antes mencionadas.^{8,9,10} (Ver Figura 4)

1.- Activar el Movimiento.- La principal y más importante función de las articulaciones es facilitar el movimiento. Este se realiza de manera fácil, indolora y es controlado por los músculos y los tendones. Además de que debe realizarse repetidamente y casi sin ninguna fricción. La estabilidad de las articulaciones proximales recae principalmente en los músculos que las rodean, sin embargo en la distales recae más en la integridad de la articulación y de los ligamentos.^{8, 10, 28}

2.- Transferencia de Carga.- Las articulaciones soportan al sistema músculo esquelético y transmiten la carga corporal. Esto se explica cuando el caballo cambia de posición

(balancea su peso), hay una mayor carga sobre un miembro, por lo que las articulaciones distribuyen y transferir las cargas. Las cuales se dispersan entre el hueso, los músculos y las articulaciones siendo estas últimas las más importantes.^{8,10,28}

2.8.- ESTRUCTURA Y FUNCIONAMIENTO DE LAS ARTICULACIONES SINOVIALES

Los componentes que conforman las articulaciones sinoviales son: (Ver Figura 6 Y 7)

1.- Cápsula articular.- Esta se encuentra formada por una porción fibrosa gruesa, recubierta por una fina capa llamada sub-sinovia (lamina propia), posteriormente la sinovia (membrana sinovial), la cual esta en contacto con el líquido sinovial, es importante mencionar que tanto la irrigación como la inervación se limita a la sub-sinovia.^{9,10,29}

2.- Membrana Sinovial.- Esta constituida por mesénquima modificado, con un grosor de 1 a 4 sinoviocitos, la cual presenta un color blanco amarillento. Los sinoviocitos son células que se dividen en sinoviocitos A (macrófagos) y sinoviocitos B (fibroblastos), estos actúan como una importante barrera permeable, que controla la composición del líquido sinovial; su principal función es el mantenimiento de la homeostasis articular proporcionando un medio para el intercambio de nutrientes y productos metabólicos entre la sangre y el líquido sinovial, generando un adecuado metabolismo de los condrocitos y de la composición de la matriz del cartílago articular, en un menor plano favorece la fagocitosis de material extraño.^{9,10,29}

3.- Líquido Sinovial.- Es un ultra-filtrado del plasma, modificado por las células B de la membrana sinovial, las cuales secretan el ácido hialurónico el cual se encuentra en grandes concentraciones dentro del mismo.²⁹ El líquido sinovial contiene los mismos iones y moléculas que el plasma, excepto por la fibrina, El líquido sinovial contiene células mononucleares (sinoviocitos, monocitos, linfocitos que constituyen el 90%) y polimorfonucleares (el 10% restante). Es importante mencionar que el líquido sinovial normal en un equino contiene menos de 500 células nucleadas/ μ l y alrededor de .5mg/ml de

hialuronato de sodio, brindándole una consistencia viscosa, siendo el único glucosaminoglicano que no es sulfatado y que no presenta una base proteica.^{9,10,29, 30, 31}

El intercambio entre el plasma y el líquido sinovial depende tanto de la presión hidrostática como de la oncótica entre ambos tejidos. La presión que existe dentro de las cavidades sinoviales les brinda un efecto de succión y de estabilización que depende de diferentes factores como son: tamaño, volumen de líquido sinovial, posición (flexión o extensión), tipo de tejido peri sinovial, anatomía de la región, la entrada y salida de líquido dentro de la cavidad sinovial y la permeabilidad de la membrana sinovial la cual se puede ver afectada en casos de sinovitis, capsulitis o cualquier proceso inflamatorio que se presente en la articulación.^{9,10,29}

Las principales funciones del líquido sinovial son, la nutrición del cartílago articular que actúa como medio de transporte de sustancias nutritivas (glucosa) y la lubricación de las articulaciones.^{9,10,29, 31, 32}

Para su análisis el líquido sinovial se colecta de manera aséptica, utilizando una técnica que no genere ningún trauma iatrogénico a la articulación, reducir la contaminación con sangre al mínimo y tener la mayor cantidad de muestra disponible para el análisis.²⁷

Para determinar la calidad del líquido sinovial es sometido a los siguientes análisis:

3.1.- Examen Físico.- En este se evalúa la apariencia por medio de la inspección visual al momento de ser colectado. Normalmente presenta un color amarillo claro transparente. Si encontramos una hemorragia uniforme y difusa, nos indica un proceso traumático agudo, en cambio si encontramos una coloración xantocrómica (color ámbar) esta es indicativa de una artritis traumática crónica ya que al haber desgaste y erosión del cartílago articular habrá hemorragia, la cual brinda una coloración xantocrómica. Sin embargo si se encuentra cierta opacidad y material flocúleno puede ser indicativo de una sinovitis, ya que al haber un proceso inflamatorio de la sinovia, esta modificará la permeabilidad y permitirá el paso de proteínas inflamatorias como la fibrina.^{9, 10, 27, 31, 32, 33}

3.2.-Volumen.- Este depende directamente del estado fisiológico de las estructuras que componen a la articulación, en casos de sinovitis activa, se encuentra aumentado, y en algunos casos de osteoartritis crónica disminuido. Es importante mencionar que si no se obtiene líquido a la hora de puncionar una articulación no es indicativo de que no exista líquido en la misma.^{9,33} Esta reportado, que la articulación radio carpal sana de caballos adultos de aproximadamente 500 Kg. de peso contienen un volumen de $11.67\text{cc} \pm 3.28\text{cc}$.³⁴

3.3.- Formación del Coagulo.- El líquido sinovial sano no forma coagulo, debido a que esta característica la brinda el fibrinógeno, el cual no se encuentra presente en el líquido sinovial de las articulaciones sanas. Sin embargo, en el líquido sinovial que presenta cambios patológicos podemos encontrar coágulos, y el tamaño de estos dependerá del grado de sinovitis que se presente, este parámetro no es muy específico.^{9, 10, 27, 30, 31, 32, 33}

3.4.- Viscosidad.- Esta se encuentra directamente relacionada con la cantidad de ácido hialurónico y su medición detecta la cantidad y calidad. Se mide la viscosidad relativa, a una temperatura específica, utilizando un viscosímetro, en este la viscosidad del líquido sinovial es comparada con la del agua destilada, sin embargo esto puede ser tedioso, por lo que la prueba de campo es más apropiada. Se coloca una gota de líquido sinovial entre los dedos índice y pulgar y se separan rápidamente, la distancia promedio va de 2.5 a 5 centímetros. Es importante mencionar que no se debe de prestar mucha atención a esta prueba ya que este parámetro no nos brinda una imagen completa del comportamiento reológico del líquido sinovial, y no debe de utilizarse para determinaciones cualitativas y cuantitativas de la cantidad de ácido hialurónico.^{9, 10, 27, ,30, 31, 32}

3.5.- Prueba de la Mucina.- Para la determinación de la mucina es importante no mezclar la muestra con la sal disódica del ácido etileno diamino tetraético (EDTA), ya que por la interacción que tiene con el calcio interfiere con la determinación de la misma. Esta se considera una prueba semicuantitativa, la cual nos indica el grado de polimerización del ácido hialurónico contenido en el líquido sinovial.³² Esta se evalúa colocando 1 parte de líquido sinovial y 4 partes de ácido acético al 2.5% y mezclándolas rápidamente. El

precipitado que se forma es el coágulo de mucina, el cual se evalúa utilizando la siguiente escala subjetiva.^{9, 10, 27, 30, 31, 32}

- 1.- Bueno.- Coágulo firme con líquido claro alrededor
- 2.- Regular.- Coágulo blando con líquido ligeramente turbio alrededor
- 3.- Malo.- Coágulo muy friable con abundante líquido turbio alrededor
- 4.- Muy Malo.- Pequeños grumos con líquido turbio alrededor.

Por lo general mientras mas inflamada se encuentra la articulación menor calidad tendrá el coágulo, ya que disminuye la cantidad de mucina.^{9, 10, 27, 31, 32}

3.6.- Proteína.- Muchas de las proteínas plasmáticas, incluyendo las de alto peso molecular, son excluidas del líquido sinovial en articulaciones sanas.³⁰ Por lo general la concentración de proteína se mide con el refractómetro, sin embargo si se requiere separar cada una de las proteínas debemos de realizar una electroforesis. La concentración normal va de 25 a 35 % del total de proteínas plasmáticas del mismo animal. Por lo que los valores normales son de 1.81 ± 0.26 g/dl. Esta se ve aumentada en casos de inflamación articular, ya que al haber inflamación hay migraciones de células inflamatorias (proteínas).^{10, 27, 35, 36}

3.7.- Electrolitos.- De acuerdo a la teoría de Donnan, el Cloro (Cl^-) y el Bicarbonato (NHCO_3^-) se encuentran ligeramente elevados en el líquido sinovial, y los cationes como el Calcio (Ca^+), Sodio (Na^+), Potasio (K^+) y Magnesio (Mg^+) se encuentran en menor concentración en el líquido sinovial.^{31, 32}

3.8.- pH.- El pH del líquido sinovial es de 7.46 U/hidrogeniones, el cual se mide por medio de un potenciómetro.^{31, 35, 36, 37, 38}

3.9.- Citología.- Al coleccionar las muestras, se recomienda utilizar la sal disódica del ácido etileno diamino tetracético (EDTA), ya que se preservan mejor las células. Para el conteo celular, se utiliza solución salina como diluyente y no el diluyente usual (ácido acético), ya que se precipita el líquido sinovial y no se podrá realizar la medición, sin embargo si la

cantidad de células se ve aumentada, es necesario realizar un frotis para poder identificar la diferentes células blancas.^{9, 10, 30}

Células Nucleadas 50-500/ μ l, dentro de las cuales encontramos Neutrófilos <10%
Linfocitos y Macrófagos >90% y Eosinófilos <1%

4.- Cartílago Articular: Este presenta una apariencia cristalina, translúcida, por su alto contenido de agua (70% en adultos y 80% en jóvenes), el resto corresponde a una red de colágena que contiene 50% de colágena, 35% proteoglicanos, 10 % de glucoproteínas.^{9,10, 29, 33, 39, 40, 41, 42, 43} Los proteoglicanos son proteínas, a las cuales se les adhieren un gran número de glucosaminoglicanos, en su mayoría keratan-sulfato y condritín-sulfato, a su vez estos contienen grupos sulfato cargados negativamente por lo que atraen agua. Los proteoglicanos están conectados por medio de proteínas a moléculas de ácido hialurónico las cuales están a su vez unidas a las fibras de colágena.⁴⁰

Es importante tomar en cuenta que no presenta ni irrigación ni inervación. Su función es absorber y transferir el estrés al cual es sometida la articulación, es necesario que este obtenga la cantidad necesaria de nutrientes para su buen funcionamiento.^{9,10, 29, 39, 40, 41, 42,43}

Por lo tanto el funcionamiento adecuado de las articulaciones depende de la permanencia del cartílago. Su degradación es causada por diferentes tipos de artritis severa, lo que genera la osificación y disfunción de la articulación.^{24, 41}

El cartílago articular de caballos adultos se divide en cuatro capas: (Ver Figura 8)

A.- Tangencial o Superficial.- Presenta la mayor celularidad y contiene condrocitos ovoides aplanados, las fibras de colágena se encuentran ordenada tangencialmente.

B.- Intermedia o Transicional.- Se caracteriza por la presencia de condrocitos de mayor tamaño y redondeados, que pueden ser simples o en pares y las fibras de colágena se encuentran orientadas al azar.

C.- Radiada o Profunda.- Esta contiene condrocitos ordenados en columnas, separado por fibras de colágena.

D.- Calcificada.- Aquí encontramos cartílago mineralizado y condrocitos en diversas etapas de degeneración.

5.- Hueso subcondral: Este comprende el tejido sub-articular mineralizado. Sus funciones principales consisten en dar soporte estructural al cartílago articular, distribuir la carga mecánica a la diáfisis cortical, así como absorber la tensión de los impactos mecánicos continuos y nutrir las capas profundas del cartílago hialino, especialmente en el período de crecimiento. El espesor del hueso subcondral varía en función de la especie animal, edad, masa corporal, localización y tipo de articulación. El hueso subcondral está muy vascularizado e innervado, aunque la mayoría de los vasos no alcanzan el cartílago calcificado, y ninguno penetra en el cartílago hialino.^{9,10, 29}

2.9.- CONDRÓGENESIS

Los condrocitos, son células esenciales para la formación del cartílago articular y del hueso subcondral, su origen embrionario proviene de las células mesenquimales pluripotenciales provenientes de la somatopleura de la placa mesodermal lateral.^{10, 44} Cuando el cartílago articular madura, las cadenas de proteoglicanos disminuyen en tamaño, pero aumentan en número, disminuyendo la cantidad de condritin sulfato y aumentando la de keratan sulfato, al mismo tiempo disminuye la colágena tipo I y aumenta la tipo II, esta acción favorece el endurecimiento del cartílago articular lo cual es necesario, ya que este deberá de soportar mayor peso conforme el animal crece. Al mismo tiempo, el cartílago, puede dar origen al hueso subcondral, al inicio el condrocito sufre una maduración hipertrófica y posteriormente se presenta una calcificación endocondral lo cual está regulado por las interacciones celulares, los factores de diferenciación de los condrocitos y los factores de crecimiento.¹⁰

Uno de estos factores, que se ha estudiado ampliamente es el de las integrinas, las cuales son moléculas de superficie de los condrocitos las cuales son dependientes de cationes bivalentes como el magnesio (Mg^{+}), localizadas en la membrana extracelular, su principal función es la adhesión de los condrocitos a la colágena tipo II y a la fibronectina. Está

comprobado que la deficiencia de magnesio (Mg^{+}) altera la actividad del receptor β_1 de las integrinas, generado daño celular y degeneración de la membrana extracelular lo cual produce un daño severo al cartílago articular.^{18, 19, 20, 21} Tomando todo esto en cuenta, es importante conocer la concentración de los electrolitos del líquido articular y su correlación con los del plasma.¹⁰

La morfología y la función, los condrocitos son células redondas localizadas en la Matriz Extracelular (MEC), los cuales representan de un 5 a un 10% del total del cartílago articular. Estas son consideradas la unidad funcional del cartílago articular, ya que son las encargadas del mantenimiento de la MEC pues sintetizan y secretan los componentes de la MEC como la colágena, el ácido hialurónico, proteoglicanos y glicoproteínas.^{10, 44, 45}

Es importante mencionar que estos obtienen sus nutrientes (glucosa, O_2 y Aminoácidos) por difusión del líquido sinovial, al mismo tiempo eliminan sus desechos^{10, 44, 45}

La glucosa es esencial dentro del cartílago articular, ya que es utilizada por los condrocitos y es precursora de la síntesis de los glucosaminoglicanos, esta presenta transportadores específicos como el Glut 1, 3 y 4, los cuales no son sensibles a la insulina.^{42, 43, 46}

2.10.- CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN

La técnica seleccionada para determinar la cantidad de dexametasona es la de cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR). Esta permite separar, identificar y cuantificar compuestos afines en mezclas que difícilmente se podrían separar mediante otro proceso. El CLAR sirve para realizar el análisis de cualquier fármaco y confirmar la identidad de la misma, al mismo tiempo provee resultados cuantitativos. Con la ayuda de la formación de un derivado se confirma la identificación del fármaco. La técnica se basa en la diferencia de velocidades con que se mueven los componentes de una mezcla a través de una fase estacionaria o columna, mediante el flujo de una fase móvil. El resultado depende de una adecuada operación y combinación de los elementos, es decir, tipo, longitud y diámetro de la columna y de la fase móvil.^{6,7} (Ver Figura 11)

El análisis de los fármacos y sus metabolitos por medio del CLAR en los líquidos corporales (plasma, suero, líquido articular y orina), es una de las técnicas mas demandantes pero mas utilizadas, ya que en ciertas ocasiones los compuestos endógenos se encuentran en mayor cantidad que los exógenos y su estructura es muy similar a ciertas fármacos que se analizan.⁴²

Por medio del CLAR se determinan las concentraciones de dexametasona en el líquido sinovial, en el plasma y de estos valores se derivará la cinética. Para esto se requiere de la obtención de líquido sinovial y sangre.^{6,7,16}

3.- FACTORES ENCARGADOS DE LA DEGRADACIÓN ENZIMÁTICA DE LA MATRIZ DEL CARTÍLAGO ARTICULAR

3.1.- OSTEOARTROSIS

El término osteoartrosis (OA) se refiere a una enfermedad progresiva, y permanente que deteriora al cartílago articular, acompañada por cambios en el hueso subcondral y tejidos blandos de la articulación. A esta también se le conoce como enfermedad articular degenerativa (EAD).¹⁰ (Ver Figura 9)

La osteoartrosis se define como un desorden no inflamatorio de las articulaciones, el cual se caracteriza por la degeneración y pérdida del cartílago articular y la aparición de hueso de nueva formación en las superficies y márgenes articulares. Hasta el momento se han propuesto 3 diferentes hipótesis acerca de la osteoartrosis.^{9,10,27,40}

La primera habla acerca del cartílago articular defectuoso con propiedades biomecánicas anormales, el cual al ser sometido a una carga normal, falla generando una osteoartritis.¹⁰

La segunda incluye cambios físicos en el hueso subcondral, en este el cartílago articular se encuentra muy delgado, por lo que no puede absorber adecuadamente el

impacto, el cual deberá de ser amortiguado por los tejidos peri-articulares, músculos y hueso subcondral, por lo que pueden ocurrir micro-fracturas del hueso subcondral y trabecular. Cuando estas ocurren de manera frecuente, exceden la capacidad de regeneración y remodelación del hueso subcondral, aumentando la densidad de la placa subcondral lo cual a su vez disminuye la capacidad de absorción del impacto, generando endurecimiento del hueso subcondral, esclerosis y el cartílago sufre estrés suprafisiológico, generando un daño mecánico.¹⁰

La tercera y más aceptada, se basa en las fuerzas mecánicas que llegan a causar daño al cartílago sano. Este daño nos da una alteración metabólica de los condrocitos, lo cual genera una liberación de enzimas proteolíticas las cuales causan fibrilación y ruptura de la red de proteoglicanos.¹⁰

Es importante seleccionar un tratamiento adecuado, ya que la efectividad del mismo dependerá del estado de la enfermedad. El principio para el tratamiento de la osteoartritis puede dividirse en tres etapas.^{9, 24, 29}

- A) Prevención y/o tratamiento de la causa primaria (fracturas intra-articulares, Osteocondrosis, etc.)

- B) Tratamiento de los tejidos blandos que contribuyen con la degeneración del cartílago articular. (descanso, fisioterapia, antiinflamatorios esteroidales y no esteroidales, ácido hialurónico, glucosaminoglicanos, etc.)

- C) En caso de ser necesario se realiza tratamiento de la degeneración del cartílago articular. (curetaje del área afectada, artrodesis, remoción de osteofitos, etc.)

3.2.- DEGENERACIÓN DEL CARTÍLAGO ARTICULAR

Esta se presenta principalmente en casos de osteoartritis o osteoartrosis (enfermedad articular degenerativa), la cual se caracteriza por la fibrilación y erosión del cartílago

articular, la cual puede estar acompañada de lesiones en el hueso subcondral. Microscópicamente se observa una reducción en el contenido de los proteoglicanos y por lo tanto de sus agregados (glucosaminoglicanos, colágena), aumentando la cantidad de agua.^{8, 9, 29}

La degradación se da principalmente por las metaloproteinasas, citokininas y radicales libres de O₂. Aunque los condrocitos intentan reparar el daño, la degradación es mayor que la reparación, por lo que los condrocitos no son capaces de mantener la estructura del cartílago articular.^{8, 9, 29} (Ver Figura 10)

3.3.-METALOPROTEINASAS

Son una familia de enzimas proteolíticas dependientes de zinc, las cuales están involucradas en la degradación y remodelación del cartílago articular en casos de enfermedad articular. Este grupo de proteínas son capaces de digerir todos los componentes de la matriz extracelular, estas son sintetizadas por los sinoviocitos y condrocitos en su forma inactiva, al presentarse una enfermedad articular son activadas. Las metaloproteinasas se clasifican en colagenasas, estromelicinas, gelatinasas. Cuando el cartílago esta sano, la actividad de las enzimas proteolíticas es controlada por ciertos mecanismos, uno de los mas importantes son las proteínas inhibidoras llamadas tejido inhibidor de las metaloproteinasas (TIMPs) el cual es sintetizado por los sinoviocitos, condrocitos y células endoteliales, estos inactivan a las metaloproteinasas uniéndose a ellas por medio de un enlace no covalente 1:1.^{8, 9, 29, 33} (Ver Cuadro 1 y Figura 10)

3.4.- INHIBIDORES DE LAS METALOPROTEINASAS

Al presentarse la enfermedad articular se genera la degradación del cartílago articular (colágena y proteoglicanos) el cual es degradado por las Metaloproteinasas, siendo estas liberadas por los mediadores proinflamatorios, interleucinas (IL) y citokininas. Las

Tetraciclinas, Doxiciclinas, Dexametasona y glucosaminoglicanos son inhibidoras de algunas metaloproteinasas, pero su efecto no está muy estudiado.⁸

3.5.- CITOCININAS

Este término se utiliza para describir un grupo de pequeñas proteínas reguladoras del metabolismo del cartílago articular, promotoras de crecimiento y pro-inflamatorias, producidas por una variedad de células del organismo. Dentro de las articulaciones, son las encargadas de regular el metabolismo de la membrana sinovial y del cartílago articular. Estas presentan diversas funciones y se dividen en tres grupos:^{8, 9, 29} (Ver Cuadro 2 y Figura 10)

La IL-1 es el mediador inflamatorio más importante en la enfermedad articular, esta es la encargada de la destrucción de la matriz extracelular y la formación de un tejido inadecuado en el cartílago artrítico. A su vez disminuye la síntesis de proteoglicanos y colágena tipo II. El FNT α está implicado en el desarrollo de la osteoartritis y se han encontrado concentraciones elevadas en las articulaciones afectadas, además estimula la síntesis de enzimas encargadas de la degradación de la matriz extracelular, e inhibe la síntesis de condrocitos, proteoglicanos y colágena. Sin embargo su efecto es menor que el de la IL-1.^{8, 29}

3.6.- RADICALES LIBRES DE O₂

Los radicales libres de O₂ son altamente reactivos y citotóxicos, estos son capaces de captar hidrógenos para la formación de peróxidos orgánicos y de radicales libres, capaces de oxidar la grasa y la destrucción celular. Estos son sintetizados por los neutrófilos y liberados en su gran mayoría dentro de las vacuolas fagocitarias, una pequeña cantidad llega al espacio intersticial. Los radicales libres de O₂ se forman al activarse lo que se denomina la “Explosión Respiratoria” esta se activa cuando los neutrófilos fagocitan a una bacteria o cualquier material denominado como extraño, inmediatamente después el neutrófilo aumenta alrededor de cien veces su consumo de oxígeno debido a la activación

de la enzima NADPH oxidaza, generando radicales libres de oxígeno dentro de los cuales encontramos al anión superóxido, los radicales hidroxilo y el peróxido de hidrógeno. Uno de los más importantes a concentración articular es el óxido nítrico. Los metabolitos del oxígeno pueden llegar a causar daño a moléculas cercanas con las cuales entran en contacto. El tejido articular sufre este daño en casos de inflamación tanto crónica como aguda. En estudios *in Vitro* se ha visto que son capaces de disminuir las moléculas de proteoglicanos, ácido hialurónico y de colágena.^{8,9,29} (Ver Figura 10)



3.7.- PROSTAGLANDINAS

Son lípidos que se forman en la mayor parte de los tejidos del organismo a partir del ácido araquidónico que actúan como mediadores en un gran número de procesos fisiológicos, las podemos encontrarlas en concentraciones elevadas cuando tenemos un proceso inflamatorio. La más importante en este caso es la PGE₂ ya que causa inflamación sinovial y contribuye a la destrucción del cartílago articular, publicaciones recientes mencionan que son capaces de regular la formación de MMP, sin embargo se requiere de mayor investigación en el tema.⁸ (Ver Figura 10)

4.- JUSTIFICACIÓN

Esta investigación se realizó principalmente por la necesidad comprender la cinética y los efectos del fosfato sódico de dexametasona, ya que es un fármaco utilizado ampliamente en la práctica veterinaria, de cierta forma empírica. Durante años se han buscado las metaloproteinasas causantes de la degradación del cartílago articular, pero hasta la fecha solo se han confirmado dos metaloproteinasas, la “2” y la “9”. Estas poseen una acción que degrada tanto a la colágena como a los proteoglicanos en la matriz del cartílago articular. Estas proteasas se encuentran en altas concentraciones en el líquido sinovial en caballos con enfermedad articular degenerativa. Al identificar los efectos de diferentes fármacos sobre estas metaloproteinasas se comprobó que la dexametasona inhibe a la “2” y los glucosaminoglicanos a la “2” y a la “9”. Hoy en día existen un gran número de tratamientos para la enfermedad articular degenerativa en el caballo, sin embargo no se sabe si estos actúan solo de manera sintomática o si en verdad están interviniendo en el proceso de la enfermedad.⁴⁶ Aunado a esto estudios in-Vitro han demostrado que la dexametasona favorece la condrogénesis, estimulando al gen SCRG1, sin embargo se requiere de más investigaciones para poder comprobar su efectividad.²⁴

Esta serie de antecedentes nos da la pauta para la formulación de los objetivos y de la hipótesis de la presente investigación.

5.- OBJETIVOS

Identificar la farmacocinética de la dexametasona y determinar el efecto cualitativo y cuantitativo sobre los parámetros del líquido sinovial en la articulación radio-carpal de caballos radiográfica y biomecánicamente sanos

6.- HIPÓTESIS

El fosfato sódico de dexametasona inyectado intra-articularmente en caballos radiográfica y biomecánicamente sanos producirá cambios bioquímicos y celulares asociados con la cinética en el líquido sinovial, sin ocasionar dolor, rubor, calor y pérdida de la función de la articulación.

7.- MATERIAL Y MÉTODOS

La fase de campo de este estudio se realizó en el departamento de Medicina, Cirugía y Zootecnia para Équidos y la fase de laboratorio en el Departamento de Toxicología de la FMVZ de la UNAM en la Ciudad de México. Se utilizaron 3 caballos radiográfica y biomecánicamente sanos con un peso vivo promedio de 309 ± 29 Kg., con una condición corporal aceptable. Debido a que se requiere de un criterio objetivo para comprobar que los caballos se encuentran radiográfica y biomecánicamente sanos, se tomaron en cuenta las constantes fisiológicas, así como un examen físico de claudicación en estática. Este consistió en flexionar, palpar y medir la temperatura mediante una cinta-termómetro y un examen de claudicación en dinámica que consistió en evaluar al caballo al paso y al trote en línea recta. Posteriormente se realizaron pruebas de flexión de las articulación del carpo, así como tomas radiográfica dorso-palmares y latero mediales de esta región. (Ver Cuadro 3)

7.1.- ESTUDIO PILOTO

Para este se utilizo un caballo radiográfica y biomecánicamente sano de 450 Kg de peso. para probar la efectividad del método seleccionado, la dosis requerida, así como para estandarización de los parámetros. Se selecciono una dosis de 24 mg de fosfato sódico de dexametasona y se realizó el muestreo al minuto (0, 60, 120, 240 y 480).

|

7.2.- TRABAJO DE CAMPO

Se seleccionaron 3 caballos, a los cuales se les administraron 3 diferentes dosis de fosfato sódico de dexametasona, logrando con esto un estudio cruzado, se manejo un tiempo de retiro de 60 días entre cada dosis y se rotaron las articulaciones colocando el fosfato sódico de dexametasona en la articulación opuesta. Cada caballo tiene dos unidades de estudio, que son cada uno de los miembros anteriores, en este caso la articulación radio-carpal. Se rasuró la zona con un peine del número 40, posteriormente se realizó un lavado quirúrgico del área con yodopovidona al 8% y alcohol etílico al 70%. Se puncionaron las

articulaciones radio-carpales de ambos miembros, con agujas del calibre 23 de una pulgada de longitud para obtener muestras del líquido sinovial, que se utilizaron como testigo de los valores celulares y bioquímicos del líquido sinovial de cada caballo y para comprobar que no existió alguna alteración antes de aplicar el fosfato sódico de dexametasona y el agua bidestilada estéril dentro de la articulación. Al primer grupo se le administraron 16 mg de fosfato sódico de dexametasona intra-sinovialmente por articulación, al segundo grupo 20 mg por articulación y al tercer grupo 24 mg por articulación, estas dosis se establecieron tomando en cuenta la investigación propuesta por Blackford. J.² En la articulación opuesta se les aplicó la misma cantidad en mililitros de agua bidestilada estéril ya que este es el vehículo c.b.p. producto utilizado (Decorex), la cual se utilizó como testigo.

Basados en el estudio piloto se tomaron muestras de líquido sinovial en tubos vacutainer, que contenían la sal disódica del ácido etilen diamino tetracético (EDTA) y en tubos vacutainer sin anticoagulante, además de obtener plasma de la vena yugular en tubos vacutainer sin anticoagulante a la hora de muestreo (0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8 y 16) postaplicación del fosfato sódico de dexametasona y el agua bidestilada estéril, donde se evaluaron las características físicas, químicas y celulares las cuales fueron comparadas con la muestra inicial.

Las muestras de plasma y de líquido sinovial con sal disódica del ácido etilen diamino tetracético (EDTA) fueron congeladas a -4°C hasta su análisis para evitar cualquier alteración.

El fundamento por el cual se decidió utilizar la sal disódica del ácido etilen diamino tetracético (EDTA), es que éste actúa como un estabilizador de la dexametasona en el líquido sinovial; debido a la baja solubilidad de la dexametasona se utiliza un éster fosfato para compensar. El éster fosfato permite una rápida dispersión posterior a la inoculación, a esta se le conoce como pro-droga. Sin embargo, esta pro-droga genera una hidrólisis ex-vivo en el líquido sinovial después de la toma de muestra, genera una subestimación de la concentración del fosfato sódico de dexametasona post administración.¹³

Debido a que se requería conocer el volumen aproximado de líquido sinovial que, contiene cada articulación para determinar la concentración del fármaco en el líquido sinovial, se tomaron en cuenta los valores propuesto por Smith J.M.³² El plantea que el diámetro de la articulación es directamente proporcional a la cantidad de líquido sinovial. Sin embargo, el diámetro de las articulaciones de los animales que se utilizaron no están dentro del rango que el establece, por lo tanto se decidió realizar una regresión lineal para poder determinar el volumen de las mismas. (Ver Cuadro 4 y 5)

7.3.- EVALUACIÓN DEL LÍQUIDO SINOVIOL

El líquido sinovial (colectado en tubos vacuatiner sin anticoagulante) fue sometido a las siguientes evaluaciones:

- 1.- Apariencia física, esta se evaluó clasificando las muestras en una escala del uno al cinco (1 amarillo, 2 incoloro, 3 turbio, 4 anaranjado, 5 sanguinolento)
- 2.- Conteo celular. (células nucleadas); las cuales se contabilizaron en una cámara de Newbauer para la cuenta total de leucocitos.
- 3.- Proteína total; para su medición se utilizó la refractometría de luz.
- 4.- Prueba de la precipitación de la mucina con el sobre-nadante, la cual consistió en colocar en un tubo 0.5 ml de líquido sinovial y 2 ml de ácido acético al 2.5%, en un tubo y se esperó a que se formara el coágulo el cual se midió en una escala;
 - a.- Bueno. Coagulo firme con líquido claro alrededor.
 - b.- Regular. Se observa un coagulo blando con líquido ligeramente turbio alrededor.
 - c.- Malo. Se observa un coagulo friable y pequeño con líquido turbio alrededor.
 - d.- Muy malo. Se observan pequeños grumos con líquido muy turbio alrededor.
- 5.- Medición del pH por medio de un potenciómetro
- 6.- Formación del Coágulo
- 7.- Medición de las concentraciones de electrolitos (Na, K, Ca y Mg) en el líquido articular la cual se midió mediante una lámpara de cátodo y por emisión de luz

7.4.- TEMPERATURA DE LA PIEL

En esta fase se midió la temperatura externa de la región correspondiente a la cápsula articular biomecánicamente sana, antes de la aplicación del fosfato sódico de dexametasona y el agua inyectable. La medición se realizó mediante el uso de una cinta-termómetro (Laboratorios MYN, S.A.), la cual presenta una escala de medición sin puntos decimales (37, 38, 39 y 40°C). Posteriormente se realizaron mediciones subsecuentes de las mismas después de la aplicación del fosfato sódico de dexametasona y agua bidestilada estéril para observar si existió una variación en la temperatura de la articulación, con la finalidad de determinar si existió un proceso inflamatorio en la articulación como consecuencia de la aplicación de los mismos.

7.5.- EVALUACIÓN POST – APLICACIÓN

En ésta fase se evaluaron los caballos clínicamente en cuanto a su desarrollo biomecánico. Se observó si presentaban o no signos de claudicación, evaluando la fase anterior del paso, grado de flexión de la articulación, presencia de dolor a la flexión de la articulación involucrada, dolor a la manipulación y presencia de enrojecimiento de la piel que recubre a la articulación radio-carpal.

7.6.- DETERMINACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DEL FOSFATO SÓDICO DE DEXAMETASONA Y DEXAMETASONA

Se realizó por medio de la Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR), la cual se considera una herramienta analítica que ayuda a separar, identificar, cuantificar y confirmar compuestos o moléculas afines en mezclas que difícilmente podrían separarse mediante otro proceso. El CLAR es sumamente útil para realizar el análisis de cualquier fármaco y confirmar la identidad de la misma, al mismo tiempo nos provee de resultados cuantitativos. La técnica se basa en la diferente velocidad con que se mueven los componentes de una mezcla a través de una fase estacionaria, mediante el flujo de una fase

móvil. El resultado depende de una adecuada operación y combinación de los elementos, es decir, tipo, longitud diámetro de la columna y fase móvil.^{6, 7, 41}

7.6.1.- Preparación de los Estándares.-

Se obtuvieron los estándares de Dexametasona base al 98% con grado CLAR y Fosfato Sódico de Dexametasona al 97% también con grado CLAR, posteriormente se prepararon los estándares, en metanol a 0.5 mg/ml y se almacenaron en refrigeración en frascos color ámbar.

7.6.2.- Calibración de la Curva Estándar.-

Para la determinación de las curvas de los estándares se mezcló la dexametasona y el fosfato sódico de dexametasona realizando diluciones seriadas para obtener los siguientes estándares 0.25mg/ml, 0.125 mg/ml y 0.0625 mg/ml.

7.6.3.- Determinación de la Longitud de Onda por medio del Espectrofotómetro de Rayos UV.-

Se realizó un barrido de la dexametasona y del fosfato sódico de dexametasona, ya que el artículo en el cual estábamos basando la determinación indicaba una longitud de 480UV para ambas, la cual no es convincente.

Esta prueba nos indica que la absorbancia máxima de la dexametasona fue a los 273.4 nm, con una absorbancia de 6.101 ABS, y en el fosfato sódico de dexametasona se detectó la absorbancia máxima a los 248.1 nm, con una absorbancia de 4.407 ABS.

7.6.4.- Características Instrumentales del CLAR.-

Fase móvil 70mM Fosfato de Potasio/ metanol/ tetrahidrofurano (560:400:40)

Tiempo de la corrida: 6 minutos

Flujo isocrático: 1.5ml/min.

Auto muestreador

Volumen de inyección: 25 µl

Guarda Columna C-18

Columna de sílica ULTRASPHERE C-18 (4.6mm x 4.5cm) de 5 micrómetros

Longitud de onda de 270 UV

Tiempo de Retención para el fosfato sódico de dexametasona 1 minuto

Tiempo de Retención para la Dexametasona 3.2 minutos

7.6.5.- Almacenamiento de las Muestras.-

Después de ser colectadas, estas fueron congeladas a – 4 °C para evitar cualquier alteración de la misma.

7.6.6.- Extracción del Fosfato Sódico de Dexametasona y Dexametasona.-

Se utilizó una técnica modificada de Blackford.² Las muestras se descongelaron a temperatura ambiente. Se colocó un mililitro de líquido sinovial y plasma sanguíneo en un tubo de ensayo, a este se le agregó dos mililitros de acetato de etilo, posteriormente se colocó en el vortex por 30 segundos y al finalizar se centrifugaron a 4,500 RPM en una centrífuga Sol Bat J-600 por 5 minutos. Se observó como se sedimentó el líquido sinovial y el acetato de etilo se quedó en la superficie, este se colocó en un tubo de ensayo limpio, al sedimentar se le agregaron 50 µl de 0.6 Molar de ácido sulfúrico, después se colocaron en el vortex por 30 segundos, posteriormente se le agregó un mililitro de acetato de etilo, se

colocaron en el vortex otros 30 segundos y al finalizar se centrifugaron a 4,500 RPM por 5 minutos. Se observó como se sedimentó el líquido sinovial y el acetato de etilo se quedó en la superficie, este se colocó en el tubo de ensayo que contiene el acetato de etilo de la primera extracción y finalmente se evaporó a 50 °C con nitrógeno y se reconstituyó con 500 µl de la fase móvil para poder ser inyectado en el CLAR.

Una vez estandarizadas y atestiguadas las diversas variables de esta técnica cromatográfica se procedió a inyectar las muestras ya procesadas tanto de líquido sinovial como de plasma. Es importante mencionar que se logró unificar una técnica tanto para extracción como para la detección del fosfato sódico de dexametasona.

7.6.7.- Porcentaje de Recuperación *in Vitro*.-

Para poder determinar el porcentaje de recuperación se obtuvieron 4 ml de líquido sinovial fresco, el cual se dividió en 4 unidades de 1 ml, a cada una se le administraron 50 µl del estándar del fosfato sódico de dexametasona y dexametasona a una concentración de 0.25 mg/ml respectivamente. La muestra 1 fue analizada y las demás fueron congeladas para determinar si la congelación/tiempo afecta, disminuyendo la cantidad de fármaco detectable. Tanto en la primera muestra como en las subsecuentes el porcentaje de recuperación *in Vitro* fue de un 30% con un límite mínimo de detección de .35 µg/ml de líquido articular.

7.6.8.- Análisis Estadístico Descriptivo e Inferencial.-

Para poder realizar el análisis de las variables obtenidas de las muestras de líquido sinovial en las articulaciones a las que se les administró fosfato sódico de dexametasona y agua bidestilada, se realizó una prueba de ANOVA, la cual nos permite realizar un análisis estadístico descriptivo con la aplicación de observaciones repetidas durante el experimento, aunado a un análisis inferencial entre los grupos, en el paquete estadístico SAS (SAS

System V.9.2005, Institute Inc). La evaluación visual de los resultados se realizó por medio de gráficas y cuadros. (Ver figura 12 – 20)

7.6.9.- Análisis Farmacocinético por el PK Analyst.-

El análisis farmacocinético se realizó por medio del programa computacional PK Analyst por medio del cual obtuvimos la vida media de eliminación (K_{elim_half}), el tiempo de permanencia dentro de la articulación ($Residence_time$), el área bajo la curva (AUC) y las constantes de α (fase de distribución del fármaco) y β (fase de equilibrio y eliminación del fármaco) Se utilizó el modelo farmacocinético número 7 el cual obedece a un modelo de dos compartimientos con una entrada de bolo y una salida de primer orden. Este modelo presenta las siguientes variables:

- Variable Independiente: Tiempo
- Variable Dependiente: Concentración
- Parámetros: A, B, α y β
- Ecuación: $Concentración(Tiempo) = Ae^{-\alpha*Time} + Be^{-\beta*Time}$ (Ver Figura 12)

Este modelo permite localizar A, B, α y β en un modelo de dos compartimientos esto se basa en la obtención de las diferentes medidas de las concentraciones dentro del compartimiento en un periodo de tiempo determinado. Al mismo tiempo nos proporciona el área bajo la curva (AUC), la tasa de transferencia del primer compartimiento al segundo (K_{12}), la tasa de transferencia del segundo al primero (K_{21}), la vida media de α (alpha half), la vida media de β (beta half) y el tiempo de residencia.

Es importante mencionar que se eligió un modelo de dos compartimientos ya es el modelo que se adecuó al comportamiento del fosfato sódico de dexametasona. En la cual la dexametasona presenta una fase de distribución denominada α y una fase de equilibrio y eliminación denominado β , la cual es eliminada a plasma.⁴⁹ (Ver Figura 13)

El cálculo de la concentración de fosfato sódico de dexametasona y dexametasona base en cada muestra se obtuvo con el punto de intersección en la curva de los estándares de

acuerdo a la altura obtenida en los cromatogramas con un tiempo de retención igual a los estándares. La concentración parcial del fosfato sódico de dexametasona y de la dexametasona se obtuvieron multiplicando el volumen inyectado, los factores de la alícuota, el volumen de muestra y el volumen total de líquido articular contenido en la articulación posteriormente estos valores se ajustaron de acuerdo al porcentaje de extracción calculado por el método mencionado con anterioridad. La concentración final se obtuvo sumando las concentraciones parciales de dexametasona y de fosfato sódico de dexametasona. (Ver Cuadro del 27 al 35)

8.-RESULTADOS

8.1.- VALIDACIÓN DEL MÉTODO

El principal objetivo de la validación de un procedimiento es el demostrar que es apto para lo que se pretende utilizar. Hay ciertas características de validación como son: la linealidad, repetibilidad, precisión, exactitud, especificidad, límite mínimo de detección, el límite mínimo de cuantificación y la estabilidad del compuesto. Para obtener la linealidad se realizó la curva de calibración con los estándares a diferentes concentraciones, las cuales arrojaron un coeficiente de correlación del .99 que indica una excelente linealidad.(Ver Cuadros 6 y 7)

Para comprobar la repetibilidad del método se obtuvieron 5 mililitros de líquido sinovial fresco, el cual se dividió en 5 unidades de un mililitro cada una, a cada muestra se le añadió una cantidad conocida de fosfato sódico de dexametasona y de dexametasona. La muestra 1 fue analizada y las demás se congelaron hasta su análisis, para determinar si el efecto congelación/tiempo puede afectar la repetibilidad del método, al disminuir la cantidad de fármaco detectable. Las demás muestras se analizaron con un intervalo de una semana respectivamente. Al analizar todas las muestras se tomó en cuenta la altura de la señal de los cromatogramas, para la cuantificación y se logró comprobar con un 99% de confianza que las observaciones son iguales. (Ver Cuadros 6 y 7)

Para poder determinar la precisión del sistema se realizaron inyecciones repetidas del estándar de 0.25mg/ml de fosfato sódico de dexametasona y dexametasona en el sistema HPLC, donde se determinaron las alturas de la señal y el tiempo de retención. Los valores de la desviación estándar relativa son inferiores al 2%, lo que confirma la precisión del sistema analítico para ambos fármacos. (Ver Cuadros 8 y 9)

La exactitud del método se evaluó mediante la determinación del porcentaje de recuperación de tres estándares (0.25mg/ml, 0.125 mg/ml y 0.0625 mg/ml). Al realizar los cálculos se obtuvo un límite estándar de 30.65%, el cual se encuentra fuera del intervalo

(80 a 129%), esto nos indica que el método utilizado puede mejorarse, por lo que para estudios subsecuentes se recomienda optimizar el porcentaje de extracción.

(Ver Cuadro 10)

Es de suma importancia el poder comprobar la especificidad del método seleccionado, ya que es posible encontrar sustancias endógenas que puedan generar interferencia y la identificación sería interpretada como falsa positiva. Al realizar las inyecciones, no se observó ninguna interferencia en los tiempos de retención, además los analitos se separaron adecuadamente, con lo que se puede deducir que no se encontró ningún compuesto parecido al fosfato sódico de dexametasona o a la dexametasona. Al saber que este es un corticoesteroide exógeno y que podría presentar una interferencia con los corticoesteroides endógenos. Lo antes mencionado indica que el método es específico para la determinación del fosfato sódico de dexametasona y de la dexametasona en el líquido articular. (Ver Figuras 24 y 25)

El límite mínimo de detección (LD) es la cantidad o concentración mínima detectable de un fármaco con cierta confiabilidad al utilizar un método establecido. En este caso el límite mínimo de detección fue de 0.35 µg/ml de líquido articular.

El límite mínimo de cuantificación (LC) es la concentración del fármaco a partir del cual es confiable realizar el análisis y las determinaciones. Este se puede obtener con la siguiente fórmula. $LC = LD * Vol. de Inyección / Vol. Muestra$

$$0.35 \mu\text{g/ml} * 25 \mu\text{l} / 1000 \mu\text{l} = 1.4 \mu\text{g/ml}$$

Al trabajar con estándares es importante establecer la estabilidad de los mismos ya que dependiendo del fármaco que se este utilizando y en que tipo de solución se mantiene dependerá la estabilidad del mismo. En este caso se comprobó que tanto el fosfato sódico de dexametasona como la dexametasona suspendidas en metanol son estables al mantenerse en refrigeración por un periodo mayor a un año. Sin embargo también es importante determinar la estabilidad del fosfato sódico de dexametasona y de la

dexametasona en el líquido sinovial. Lo cual se comprobó al obtener junto con la repetibilidad, siendo esta satisfactoria.

8.2.- RESULTADOS DE LOS DATOS DE LAS VARIABLES

Al primer grupo se les administró 16mg en 4ml de fosfato sódico de dexametasona y 4ml de agua bidestilada (testigo) en este grupo se presentó una elevación en el potencial de hidrógeno, con su valor máxima (7.60 ± 0.01) a la hora 0.5, siendo mayor en la articulación en la que se aplicó agua bidestilada. Estos valores regresaron a su valor basal a la hora 8. La celularidad se vio aumentada en las articulaciones inyectadas con agua bidestilada, alcanzando su valor máxima ($305 \text{ células}/\mu\text{l}$) a la hora 1, regresando a su concentración basal a la hora 4, sin embargo las articulaciones inyectadas con el fosfato sódico de dexametasona presentaron una disminución en la celularidad desde su aplicación, alcanzando el valor mínimo ($110 \text{ células}/\mu\text{l}$) a la hora 1 y regresando a su concentración basal a la hora 16. La proteína total se vio disminuida tanto en las articulaciones a las cuales se les administró el fosfato sódico de dexametasona como en las testigo, con un valor mínimo ($0.57 \pm 0.12 \text{ gr/dl}$) a la hora 2 y regresando a su concentración basal a la hora 16. Al hablar de la viscosidad, esta disminuyó en ambas articulaciones a partir de la hora 0.5 y presentando su valor mínimo (5cm) a la hora 2. En la prueba de la calidad de la mucina se observó como las articulaciones a las cuales se les administró fosfato sódico de dexametasona y agua bidestilada disminuyeron su calidad de 1 a 2, a partir de la hora 1 y recuperaron su calidad a las 16 hrs. El sodio aumentó ligeramente en ambas, con una concentración máxima ($124.18 \pm 14 \text{ mEq/L}$) a la hora 0.25, en el caso del fosfato sódico de dexametasona y (119.01 mEq/L) a la hora .5 en el testigo, regresando ambas a sus concentraciones basales a la hora 1. En el caso del magnesio, las articulaciones a las cuales se les administró el sulfato sódico de dexametasona presentaron un aumento en su concentración alcanzando su concentración máxima ($0.76 \pm 0.11 \text{ mEq/L}$) a la hora 0.25, el cual disminuyó gradualmente. En el caso del testigo disminuyó desde la aplicación, alcanzando su valor mínimo (0.64 mEq/L) a la hora 1. El calcio en las articulaciones con fosfato sódico de dexametasona presentaron un incremento considerable alcanzando su concentración máxima ($2.70 \pm 1.03 \text{ mEq/L}$) a la hora 0.25 y posteriormente disminuyó hasta

alcanzar su concentración basal, en cambio las testigo disminuyeron alcanzando su concentración mínimo ($1.46 \pm .29$ mEq/L) a la hora 0.25, posteriormente aumentaron hasta alcanzar su concentración basal a la hora 1. El potasio en las articulaciones con fosfato sódico de dexametasona aumento considerable alcanzando su altura máxima (6.93 ± 0.92 mEq/L) a la hora 1, en el testigo disminuyó ligeramente alcanzando su concentración mínima (4.43 mEq/L) a la hora 0.5 y posteriormente aumento. (Ver Figuras de la 14 a la 21 y Cuadros 11 y 12)

Al segundo grupo se le administro 20mg en 5ml de fosfato sódico de dexametasona y 5ml agua bidestilada (testigo) igual que en el grupo anterior el potencial de hidrógeno se elevo presentando su concentración máxima (7.60 ± 0.01) a las 0.5 horas, siendo mayor en las articulaciones utilizadas como testigo. La cuenta total de células blancas se vio aumentada en las articulaciones testigo, que alcanzaron su concentración máxima (218.33 ± 27.5 células/ μ l) a la hora 0.5 y regresaron a su concentración basal a la hora 16, en cambio en las articulaciones con fosfato sódico de dexametasona se observo una disminución en la celularidad, alcanzando su valor mínimo (123.33 ± 5.77 células/ μ l) a la hora 1. La proteína total disminuyó tanto en las que se les aplico el fosfato sódico de dexametasona como en las que se les aplico el agua bidestilada, presentando su valor mínimo (0.63 ± 0.06 gr/dl) a la hora 0.5. La viscosidad del líquido sinovial disminuyó en ambas articulaciones desde la hora 0.25 obteniendo su valor mínimo (5cm) a la hora 1. La prueba de la calidad de la mucina en el caso de las articulaciones con fosfato sódico de dexametasona, no disminuyo, sin embargo en las testigo la calidad bajo a la hora 0.5. En el caso del sodio se observo un incremento desde la aplicación, con una concentración máxima a la hora (136.72 mEq/L) 1 en las articulaciones inyectadas con fosfato sódico de dexametasona y (132.64 ± 32.16 mEq/L) en la hora 0.25 en las testigo. El magnesio presento un aumento inicial en las articulaciones con fosfato sódico de dexametasona, a la hora 0.5 comenzó a descender y a la hora 2 aumento nuevamente, alcanzando su punto máxima (0.70 ± 0.2 mEq/L) a la hora 8. En el testigo se observó un incremento desde la aplicación, obteniendo su valor máxima (0.69 ± 0.14 mEq/L) a la hora 1. Posteriormente disminuyó casi hasta llegar a su concentración basal, para aumentar nuevamente. El calcio se comportó de manera estable tanto en las inyectadas con fosfato sódico de dexametasona como en las

testigo. Por último el potasio en las articulaciones con fosfato sódico de dexametasona incrementó desde su aplicación alcanzando su concentración máxima (18.26 ± 17 mEq/L) a la hora 8, en cambio las articulaciones utilizadas como testigo presentaron una disminución inicial con un valor mínimo (6.46 ± 3.57 mEq/L) a la hora 0.25, posteriormente aumento considerablemente alcanzando su concentración máxima (17.04 ± 9 mEq/L) a la hora 8. (Ver Figuras de la 14 a la 21 y Cuadros 13 – 14)

Al tercer grupo se le administro 24mg/6ml de fosfato sódico de dexametasona y agua bidestilada (testigo) igual que en los dos primeros grupos el potencial de hidrógeno se elevó presentando su concentración máxima (7.60 ± 0.01) a las 0.5 horas, observándose un mayor incremento en las articulaciones utilizadas como testigo, regresando a su valor basal a la hora 16. La cuenta total de células blancas aumento considerablemente en las articulaciones testigo, su concentración máxima (400 células/ μ l) fue a la hora 2, en comparación con las articulaciones con fosfato sódico de dexametasona, presentaron una disminución con un valor mínimo (120 ± 28.3 células/ μ l) a la hora 1. En la proteína total se observó una disminución en ambas, con un valor mínimo (0.7 ± 0.17 gr/dl) a la hora 0.25. La viscosidad disminuyó gradualmente en ambas, hasta alcanzar su valor mínimo (4.33 ± 0.58 cm) a la hora 4 en las inyectadas con fosfato sódico de dexametasona y (5) a la hora 2 en las testigo. En la prueba de la calidad de la mucina las articulaciones con fosfato sódico de dexametasona presentaron una ligera disminución (1.33 ± 0.58) la hora 4 de muestro, recuperando su valor inicial a la hora 8, en cambio las testigo disminuyeron por mayor tiempo. El sodio presentó una ligera elevación, en ambas, presentando su valor máxima (145.65 ± 22.2 mEq/L) a la hora 0.5, posteriormente disminuyó considerablemente. En el caso del magnesio las articulaciones con fosfato sódico de dexametasona presentaron un incremento desde la aplicación, alcanzando su valor máxima (0.63 ± 0.12 mEq/L) a la hora 0.25, posteriormente disminuyó hasta alcanzar su valor basal a la hora 2, en cambio las testigo presentaron una disminución inicial alcanzando su valor mínimo (0.47 ± 0.12 mEq/L) a la hora 0.25, posteriormente se observó un incremento hasta alcanzar su valor máxima (0.64 ± 0.07 mEq/L) a la hora 2. Las concentraciones de calcio en el caso de las articulaciones inyectadas con fosfato sódico de dexametasona presentaron un incremento inicial, para después disminuir por debajo de su concentración basal, alcanzando su

concentración mínimo (2.08 ± 0.1 mEq/L) a la hora 2, las testigo presentaron una disminución considerable, alcanzando su valor mínimo (1.51 ± 0.67 mEq/L) a la hora 0.25, posteriormente se incremento hasta llegar a su valor máxima (3.98 ± 0.29 mEq/L) a la hora 2, finalmente disminuyó hasta llegar a su concentración basal a l hora 4. El potasio en el caso de las articulaciones inyectadas con fosfato sódico de dexametasona presentaron un aumento poco significativo alcanzando su valor máxima (4.82 ± 2.14 mEq/L) a la hora 2, posteriormente disminuyó presentando su valor mínimo (11.65 mEq/L) a la hora 4. En las testigo solo de observo un incremento inicial alcanzando su valor máxima (3.49 mEq/L) a la hora 0.5. (Ver Figuras de la 14 a la 21 y Cuadros 15 y 16)

8.3.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las medias y desviaciones estándares de los datos de las muestras de líquido sinovial se compararon con los valores basales de cada articulación y entre individuos, obteniendo las diferencias entre las medias para cada una de las observaciones con una ($P < 0.05$).

En el cuadro 17 se observa que existen diferencias estadísticamente significativas en el potencial de hidrógeno entre la articulación testigo, a la cual se le administró 5ml de agua bidestilada y la inyectada con 20mg en 5ml de fosfato sódico de dexametasona a la hora cero y a la hora 2.

En el Cuadro 18 se observan las diferencias en la celularidad entre la articulación testigo que se les administró 5 ml de agua bidestilada y la inyectada con 20mg en 5ml de fosfato sódico de dexametasona a la hora 1 y 2.

En el Cuadro 19 no se observaron diferencias estadísticamente significativas en la cantidad de Proteína del líquido articular en los diferentes individuos.

En el Cuadro 20 se observan diferencias en la viscosidad entre las articulaciones inyectadas con 16 y 24mg de fosfato sódico de dexametasona a la hora 0.25. También se observan diferencias entre las articulaciones testigo a los que se les administró 5 y 6ml de agua

bidestilada respectivamente y entre las articulaciones inyectadas con 16 y 24mg, 20 y 24mg a la hora 0.5 aunado a esto hay diferencia entre las articulaciones inyectadas con 16 y 20mg a la hora 1, por último las articulaciones inyectadas con 16 y 24mg y las inyectadas con 20 y 24mg también presentaron diferencias entre si a la hora 4.

En el Cuadro 21 se observa la diferencia en la calidad de la mucina entre las articulaciones a las cuales se les administro 16 y 20mg y con 16 y 24mg de fosfato sódico de dexametasona a la hora 2 . También se observo diferencia entre las articulaciones inyectadas con 20 y 24mg de fosfato sódico de dexametasona a la hora 4.

El Cuadro 23 nos proporciona las diferencias estadísticamente significativas en la cantidad de sodio (Na^+) presente en el líquido articular en los diferentes individuos.

En el Cuadro 24 se anotan las diferencias en la cantidad de magnesio (Mg^+) entre las articulaciones testigo a las cuales se les administro 4 y 5ml de agua bidestilada y entre las articulaciones que se les administro 16 y 20mg y con 20 y 24mg de fosfato sódico de dexametasona a la hora cero. También se observa diferencia en las articulaciones testigo a las cuales se les administraron 4 y 5ml y 4 y 6ml de agua bidestilada. Por último se observo diferencia entre las articulaciones inyectadas con 16 y 20mg y con 16 y 24mg de fosfato sódico de dexametasona a la hora 1.

En el Cuadro 25 se observa una diferencia en la cantidad de calcio (Ca^+) entre las articulaciones testigo a las cuales se les administró 5 y 6ml de agua bidestilada y en las inyectadas con 16 y 24mg y con 20 y 24mg de fosfato sódico de dexametasona a la hora cero. También se observaron diferencias entre las articulaciones a las cuales se les administraron 16 y 20mg y 20 y 24 mg de fosfato sódico de dexametasona a ha hora 0.25. Por ultimo se encontraron diferencias entre las articulaciones testigo de 5 y 6ml de agua bidestilada a la hora 0.5 y 1.

En el Cuadro 26 se observa que no hubieron diferencias estadísticamente significativas en la cantidad de potasio (K^+) presente en el líquido articular en los diferentes individuos.

8.4.- FARMACOCINÉTICA

Las muestras procesadas fueron inyectadas en el CLAR, el cual transfiere la información a la interfase y esta a la computadora, esta última integra la información proporcionada por el sistema CLAR, utilizando el programa TotalChrom Version 6.1 de Perkin-Elmer Corp. Este proporciona la información deseada en forma de cromatogramas, los cuales nos indican la concentración del fármaco que se encuentra dentro de la articulación.

Al obtener los cromatogramas de los estándares y de las muestras de líquido sinovial se decidió tomar en cuenta la altura de la curva representada en el cromatograma y no el área, ya que la resolución en la base no nos permitió realizar la integración total del compuesto. (Ver Figuras de la 24 a la 27)

Para la transformación de la altura de la señal del cromatograma a la concentración de los estándares (concentraciones conocidas), se fabricó una regresión con un valor de R^2 0.999. De cada muestra la altura de la señal en el cromatograma se realizó el estimado de la concentración utilizando la siguiente fórmula: $y = a + b * x$ donde a = intersección, b = pendientes y x = valor de la señal.

Para determinar la concentración del fármaco dentro de la articulación se sumaron las alturas de las curvas representadas en los cromatogramas del fosfato sódico de dexametasona y la dexametasona (Ver Cuadros del 27 al 35). Posteriormente estos valores fueron procesados por el programa PKAnalyst, utilizando un modelo de dos compartimientos con una entrada de bolo y una salida de primer orden. Este indica que la frecuencia eliminación del fármaco es directamente proporcional a la concentración del mismo con una ($P < 0.01$), con un coeficiente de correlación de 0.99 para los tres individuos, un coeficiente de determinación de 0.99 para los caballos que recibieron 16mg de fosfato sódico de dexametasona, de 0.98 para los caballos inyectados con 20mg de fosfato sódico de dexametasona y 0.99 para los que se les administró 24mg de fosfato sódico de dexametasona y una R^2 de 0.99 para los tres individuos, lo cual nos indica que existe un alto índice de asociación entre las variables (tiempo, concentración).

En el grupo uno (16mg) los datos cinéticos indican que la constante de vida media de eliminación (K_{elim_half}) es de 0.028 hrs., esto nos indica que nuestro fármaco tarda este tiempo en disminuir a la mitad de su concentración inicial (8mg) además presenta un tiempo de residencia del fármaco (Res T) de .203 hrs., que es el tiempo que permanece el fármaco dentro de la articulación, sin embargo para poder determinar el porcentaje de exposición al cual fue sujeta la articulación es necesario toma en cuenta, el área bajo la curva (AUC) la cual en este caso fue de 33.504 $\mu\text{g/ml}\cdot\text{h}$. Al hablar de un modelo de dos compartimientos es importante mencionar que la fase de distribución del fármaco (α) es de 27.663/h con una constante de distribución ($K_{1,2}$) de 1.984/h y la fase de eliminación (β) de 0.462/h con una constante de eliminación ($K_{2,1}$) de 0.508/h. (Ver Cuadros 27, 28, 29 y 36)

El grupo dos (20mg) encontramos una constante de la vida media de eliminación (K_{elim_half}) de .0519 hrs. con un tiempo de residencia del fármaco (Res T) de 4.936 hrs. y un área bajo la curva de (AUC) 12.761 $\mu\text{g/ml}\cdot\text{h}$. Como se esta manejando un modelo de dos compartimientos es necesario mencionar que la fase de distribución del fármaco (α) es de 4.105/h con una constante de distribución ($K_{1,2}$) de 1.820/h y una fase de eliminación (β) de 0.119/h con una constante de eliminación ($K_{2,1}$) de 0.515/h. (Ver Cuadros 30, 31, 32 y 37)

Por último el grupo tres (24mg) recibió la dosis mas elevada, presentando un vida media de eliminación (K_{elim_half}) de 1.458 h con un tiempo de residencia (Res T) de 6.14 h y un área bajo la curva (AUC) de 9.293 $\mu\text{g/ml}\cdot\text{h}$. La fase de distribución del fármaco (α) fue de 1.313/h con una constante de distribución ($K_{1,2}$) de 2.423/h y una fase de eliminación (β) de .160/h con una constante de eliminación ($K_{2,1}$) de 0.485/h. (Ver Cuadros 33, 34, 35 y 38)

9 DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La presente investigación aporta información relevante sobre la farmacocinética del fosfato sódico de dexametasona inyectado en articulaciones de caballos radiográfica y biomecánicamente sanos. Los antiinflamatorios esteroidales son los fármacos más efectivos y por consiguiente más utilizados en el tratamiento de la osteoartritis, sin embargo las implicaciones de utilizar un fármaco, sin haber definido la farmacocinética y farmacodinamia son de gran importancia. Debido a que el éxito de un tratamiento farmacológico depende en gran medida del régimen posológico utilizado, el cual puede llegar a ser afectado por la idiosincrasia de cada unidad de estudio, en consecuencia la administración de una dosis fija de un fármaco a una población determinada puede llegar a ser impredecible. Se decidió utilizar 3 unidades experimentales en tres grupos a las cuales se les administraron tres diferentes dosis (16mg, 20mg y 24mg). Es importante mencionar que cada unidad experimental cuenta con su propio testigo, siendo este la articulación opuesta. Se manejo un periodo de retiro de 60 días entre cada dosis siendo este tiempo necesario para eliminar el 100% del fármaco de la articulación, ya que se requiere de 7 vidas medias para eliminar en su totalidad el fármaco, sin embargo para corroborar esto se tomaron como testigo los valores celulares y bioquímicos del líquido sinovial de cada caballo y se determino la ausencia del compuesto dentro de la articulación, por medio del HPLC. Es importante mencionar que se roto el sitio de aplicación del fosfato sódico de dexametasona utilizando en el primer grupo la articulación radio-carpal derecha, en el segundo la izquierda y en el tercero nuevamente la derecha.

Al realizar la evaluación del líquido sinovial se observó que el potencial de hidrógeno se elevó ligeramente en comparación a sus concentraciones basales en los tres grupos, observándose un mayor aumento en el grupo testigo. Esto se atribuyo al pH tanto del agua bidestilada (7.5) como del fosfato sódico de dexametasona (7.5), que es ligeramente mas alcalino que el líquido articular. También se observó un incremento en a la cuenta total de células blancas, aumentando considerablemente en las articulaciones testigo con respecto a sus concentraciones basales, ya que el simple hecho de puncionar la articulación, se traumatiza la membrana sinovial aumento con esto la cantidad de células inflamatorias. Sin

embargo al comparar las articulaciones inyectadas con sulfato sódico de dexametasona con sus concentraciones basales se observa una disminución en la cantidad de células, que se asocia a la acción de los corticoesteroides, que inhiben la quimiotaxis, la adhesión de los neutrófilos al endotelio vascular, la formación de depósitos de fibrina, la vasodilatación, la inhibición de la migración de los leucocitos al área inflamada y la actividad fagocítica la proliferación de los fibroblastos.^{19,20}

Al evaluar la viscosidad, la calidad de la mucina y la proteína total se observó una ligera disminución tanto en las articulaciones con fosfato sódico de dexametasona como en las testigo, que puede estar asociado a la dilución del líquido articular por la administración del fosfato sódico de dexametasona y el agua bidestilada. Al hablar de la mucina y la viscosidad es importante mencionar que estos son parámetros que se utilizan para evaluar de forma subjetiva la cantidad y calidad del ácido hialurónico, por lo que se esperaba un aumento y no una disminución en estos parámetros. Se menciono anteriormente que el fosfato sódico de dexametasona mejora la cantidad y polimerización del ácido hialurónico.²¹ Lo que podemos concluir es que este efecto es a largo plazo, por lo que se recomienda realizar un estudio en el cual se alarguen los tiempos de muestreo para alargar poder evaluar este efecto con mayor precisión y veracidad.

Al evaluar la temperatura de la piel no se observó aumento alguno, debido a que todos los animales presentaron una temperatura de 37°C, por lo que podemos inferir que el cambio fue menor a un grado centígrado, ya que el termómetro que se utilizo para realizar las mediciones solo mide número enteros (37, 38, 39 y 40°C).

Al hablar de electrolitos se debe mencionar que hasta el momento no hay ninguna investigación publicada en la cual se establezcan los parámetros de referencia de estos en el líquido articular de caballos sanos. Para esta investigación se considero relevante su medición, debido a su gran importancia en los procesos metabólicos del organismo.

Al determinar la concentración del sodio (Na^+) en el líquido articular de las articulaciones utilizadas como testigo y las que se les administro el fosfato sódico de dexametasona se

detectó un ligero aumento en esta, que se le atribuyó a que tanto el agua bidestilada como el fosfato sódico de dexametasona presentan sodio en su composición, siendo este el único electrolito presente en estas. Las concentraciones de magnesio (Mg^{+}) y calcio (Ca^{+}) se comportaron de forma errática, en el caso del magnesio se encontraron valores basales que van desde 0.38 ± 0.03 mEq/l hasta 0.68 ± 0.05 mEq/l y en el calcio valores basales desde 1.15 ± 0.07 a 2.37 ± 0.55 mEq/l. Sin embargo no se tiene una explicación para este comportamiento por lo que se hace énfasis en la necesidad de realizar un estudio sobre los valores de referencia de los electrolitos el líquido sinovial. Es importante mencionar que al realizar la toma de muestras, no se utilizó ningún anticoagulante, ya que como sabemos el EDTA actúa quelando el calcio y esto afectaría las lecturas de este analito. Al determinar la concentración de potasio (K^{+}) se observó un aumento de este analito tanto en las articulaciones con fosfato sódico de dexametasona como en las testigo, lo cual se ve reflejado con el aumento en la cantidad de glóbulos rojos obtenidos al puncionar la articulación, por lo que el aumento en la cantidad de sangre en el líquido articular es directamente proporcional al aumento en la concentración del potasio.

Para poder realizar la determinación de los fármacos se decidió utilizar la CLAR, siendo esta técnica la más utilizada en caballos para la determinación de glucocorticoides por su alta sensibilidad y especificidad. En este experimento se utilizó una técnica modificada de Blackford ². Se logró estandarizar una técnica para la detección del fosfato sódico de dexametasona y dexametasona en un mismo cromatograma, utilizando una fase móvil (70mM fosfato de K/Metanol/ Tetrahidrofurano 560/400/40) que nos permitió la adecuada separación de ambos fármacos evitando la interferencia de los 2 compuestos, al mismo tiempo. Se unificó la longitud de onda para ambos compuestos (270 nm) siendo determinada por medio del escaneo en el espectrofotómetro de rayos ultravioleta. Otro logro importante fue la utilización del EDTA como estabilizador del fosfato sódico de dexametasona para evitar la subestimación de la concentración del fármaco al minimizar la hidrólisis ex vivo, que se utilizó con gran éxito en plasma de ratas tratadas con el fosfato sódico de dexametasona. Al utilizar el CLAR se logró la identificación del compuesto en el líquido sinovial de la articulación tratada. Sin embargo no se encontraron concentraciones detectables en la articulación opuesta o en el plasma, esto no significa que este fármaco no

este presente, si no que las concentraciones presentes son menores a 0.35 $\mu\text{g/ml}$ de líquido articular, estando por debajo del límite mínimo de detección. Es importante mencionar la existencia de métodos cualitativos mas sensibles como la prueba inmunoabsorbente ligada a enzimas (ELISA), sin embargo en la presente investigación se determinó la farmacocinética del fosfato sódico de dexametasona por lo que se decidió utilizar el CLAR, ya que además de ser una prueba cualitativa es cuantitativa, siendo esta la mas adecuada para esta investigación.

Como se menciona con anterioridad fue necesario realizar la determinación y cuantificación del fosfato sódico de dexametasona y de la dexametasona para poder conocer la concentración total del fármaco que se encuentra dentro de la articulación.

Los procesos farmacocinéticos se pueden cuantificar mediante la aplicación de modelos y ecuaciones matemáticas utilizando los datos obtenidos en los estudios de absorción, distribución, metabolismo y excreción de un fármaco. En esta investigación se aplico un modelo de dos compartimientos ya que es el que mas se adecua al comportamiento del fármaco durante la exploración realizada por el Pk. Al administrar el fármaco intra-articularmente se observo una primera fase de distribución la cual se le denomina alfa (α), esta corresponde fundamentalmente a la distribución del fármaco dentro del compartimiento. La segunda fase que se observo se denomina beta (β) y representa la post-distribución o eliminación del fármaco. Esta confirma que se trata de un modelo de dos compartimientos. Para poder comprender el porque el fosfato sódico de dexametasona se comportó como un modelo de dos compartimientos siendo que las articulaciones son una entidad anatómica, se debe saber que un compartimiento no solo es una entidad anatómica o fisiológica, si no un conjunto o grupo de tejidos ⁴⁹. Al conocer lo anterior se puede atribuir el comportamiento de este fármaco a la viscosidad del líquido sinovial, la cual retarda tanto la distribución como la eliminación del fármaco.

Los resultados obtenidos en los estudios farmacocinéticos para el fosfato sódico de dexametasona son los que configuran el perfil farmacológico de este fármaco dentro de la

articulación sinovial de caballos sanos, que permite establecer las directrices para su correcta utilización y aplicación en la práctica clínica.

Los corticoesteroides se utilizan rutinariamente en humanos para el tratamiento de la artritis reumatoide, la cual es una enfermedad inflamatoria crónica que genera la destrucción del cartílago articular y del hueso subcondral.^{50, 51, 52, 53} Durante años se ha utilizado el Sódico de Dexametasona con gran éxito para el tratamiento de este padecimiento^{54,55}, por lo que las investigaciones mas recientes han arrojado información favorable sobre el uso de este fármaco en las articulaciones. Se comprobó que la dexametasona inhibe a la Metaloproteinasa “2”, la cual es una de las encargadas de la degradación del cartílago articular.⁴⁶ Estudios in-vitro han demostrado que la dexametasona favorece la condrogénesis estimulando al gen SCRG1²⁴, además de activar la expresión del Annexin1 el cual es un Gen capaz de controlar la formación de citocininas, radicales libres de oxígeno y prostaglandinas.⁵² Sin embargo se ha comprobado que la administración intra-articular de corticoesteroides a dosis altas y repetidas, disminuyen el catabolismo del cartílago articular, modificando la actividad metabólica y proliferativa al inhibir la osteoblastogénesis y la osteoclastogénesis.^{56,57}

Por todo lo anterior, se puede concluir que el fosfato sódico de dexametasona inyectado en las articulaciones de caballos radiográfica y biomecánicamente sanos no produjo alteraciones significativas en los parámetros del líquido articular y favoreció la inhibición de la migración de leucocitos al líquido sinovial, por lo que se recomienda su utilización. Sin embargo no podemos recomendar una dosis específica, por lo que es importante determinar el régimen posológico y la evaluación del efecto antiinflamatorio y analgésico del Fosfato Sódico de Dexametasona a nivel del cartílago articular, para poder establecer la dosis óptima para su aplicación en caballos.

10 LITERATURA CITADA

- 1.- Skrabalak S, Maylin A. Dexamethasone Metabolism in the Horse. *Steroids*. 1982 March; 39 (3):233-244.
- 2.- Blackford J, Doherty T.J, Ferslew K.E, Panus P.C. Iontophoresis of dexamethasone-phosphate into the equine tibiotarsal joint. *J. vet. Pharmacol. Therap.* 2000 Aug; 23(4): 229-236.
- 3.- Stanley S.M.R, Wilhelmi B.S, Rodgers J.P. Comparison of immunoaffinity chromatography combined with gas chromatography-negative ion chemical ionization mass spectrometry and radioimmunoassay for screening dexamethasone in equine urine. *J Chromatogr.* 1993 Oct 29;620(2):250-3.
- 4.- Sumano L, Lizarraga M: Antiinflamatorios Esteroidales. En Sumano L, Lizarraga M Cárdenas G. (ed): *Farmacología y Toxicología aplicada en equinos*, 2 ed. México: Avant Graph Diseña y Comunica 2001.
- 5.- Sumano L: Corticoesteroides Suprarrenales, Dimetilsulfoxido (DOMOSO) y Antihistaminicos. En Sumano L, Ocampo C. (ed) *Farmacología Veterinaria*. México: McGraw-Hill Interamericana 2001.
- 6.- Luo Y, Uboh C.E, Soma L.R, Guan F.Y, Rudy J.A, Tsang D.S. Simultaneous analysis of twenty-one glucocorticoids in equine plasma by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2005;19(10):1245-56
- 7.- Luo Y, Cornelius E. Uboh, Soma R, Fuyu Guan, Rudy A, Tsang S. Resolution, quantification and confirmation of betamethasone and dexamethasone in equine plasma by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass spectrum.* 2005 Jan; 19(6):825-832.

- 8.- Bertone A.L: Joint Physiology: Response to Exercise and Training. En Hinchcliff, J. Andris, Raymond J. (ed) Equine Sports Medicine and Surgery. USA: Saunders 2004.
- 9.- Mc/LWraith C: Diseases of Joints, Tendons, Ligaments, and Related Structures. En Stashak TS. (ed) Adams' Lameness in Horses. USA: Lipponcatt Williams & Wilkins 2002.
- 10.- Mc Ilwraith, Trotter. Joint Disease in the Horse. USA: W.B. Saunders 1996.
- 11.- Garcia C. V., Brier A.R., Steppe M., Oppe T.P. Determination of dexamethasone acetate in cream by HPLC. J Pharm Biomed Anal. 2003 Mar 10;31(3):597-600
- 12.- Zivanovic Lj, Zecevic M, Markovic S, Petrovic S, Ivanovic I. Validation of liquid chromatographic method for analysis of lidocaine hydrochloride, dexamethasone acetate, calcium dobesialate, buthydroxyanisol and degradation product hydroquinone in suppositories and ointment. J Chromatogr A. 2005 Sep 23;1088(1-2):182-6.
- 13.- Samtani M, Jusko J. Stability of dexamethasone sodium phosphate in rat plasma. Int J Pharm. 2005 Sep 14;301(1-2):262-6.
- 14.- Lemus Gallego J.M, Perez A.J. Simultaneous determination of dexamethasone and trimethoprim by liquid chromatography. J Pharm Biomed Anal. 2002 Nov 7;30(4):1255-61.
- 15.- Soma L.R, Uboh C.E, Luo Y, Guan F, Moate P.J, Boston R.C, Pharmacokinetics of dexamethasone with pharmacokinetics/pharmacodynamic model of the effect of dexamethasone on endogenous hydrocortisone and cortisone in the horse. J. Vet Pharmacol. Therap. 2005 Feb; 28(1):71-80.
- 16.- Ribeiro M.N, Salvadori C. Immunoaffinity Chromatography in the detection of

- dexamethasone in Equine Urine. *Journal of Chromatographic Science*. 1997 Nov; 35(11):549-551.
- 17.- Grippa E, Santini L, Castellano G, Gatto M.T, Leone M.G, Saso L. Simultaneous determination of hydrocortisone, dexamethasone, indomethacin, phenulbutazone and oxyphenbutazone in equine serum by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B* 2000 Jan 28; 738(1): 17-25.
- 18.- Collado S, Roble C, Zan M, Cámara S, Mantovani E, Goicoechea C. Determination of dexamethasone and two excipients (creatinine and propylparaben in injections by using UV- spectroscopy and multivariate calibrations. *Int J Pharm*. 2001 Oct 23;229(1-2):205-11.
- 19.- Plumb C. Donald, *Veterinary Drug Handbook*. USA: Blackwell Publishing 2005.
- 20.- *Diccionario de Especialidades Farmacéuticas*. PLM, México 2005.
- 21.- Friedrich A. Schulz R. Meyer H.H. Use of enzyme immunoassay and reverse-phase high-performance liquid chromatography to detect and confirm identity of dexamethasone in equine blood. *Am J Vet Res*. 1992 Dec; 53(12): 2213-2220.
- 22.- Dexamethasone Formulation Disponible en:
URL:<http://en.wikipedia.org/wiki/Dexamethasone>
- 23.- Dexamethasone Summary of Evaluations Performed by the Joint FAO
Disponible en: URL:<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v33je09.htm>
- 24.- Ochi K, Derfoul A, Tuan R. A predominantly articular cartilage-associated gene, SCRG1, is induced by glucocorticoid and stimulates chondrogenesis in Vitro. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2006 Jan;14(1):30-38.

- 25.- Ferguson D.C. Hoenig M: Glucocorticoids, Mineralocorticoids and Steroids Synthesis Inhibitor. En Adams H.R. (ed) Veterinary Pharmacology and Therapeutics. 8th ed USA: Blackwell Publishing. 2001
- 26.- Stenberg M.E. Neural regulation of innate immunity: a coordinated nonspecific host response to pathogens. Nature Reviews Immunology. 2006;6:318-328.
- 27.- Inflammatory, Infectious and Immune Diseases: Hague B.A. Carter G.K. En Colahan T, Mayhew I.G, Merritt M, Moore N. (ed): Equine Medicine and Surgery. USA: Mosby 1999.
- 28.- Getty R: Sindesmología General (artrología). En Sisson S, Grossman J.D.(ed) Anatomía de los animales domésticos. España: JGH editors. 1996.
- 29.- MacIlwraith W. Disease Processes of Synovial Membrane, Fibrous Capsule, Ligaments, and Articular Cartilage. AAEP Proceedings 2001; 47: 142-156.
- 30.- Mahaffey E.A: Synovial Fluid. En Cowell R.L, Tyler R.D, (ed). Diagnostic Cytology & Hematology of the Horse. 2nd ed USA: Mosby, 2002
- 31.- Lipowitz. Sinovial Fluid. En Breur G.J (ed) Textbook of Small Animal Orthopedics. USA: Newton CD. And Nunamakers D.M. 1985.
- 32.- Perman V: Synovial Fluid. En Kanko J(ed): Clinical Biochemistry of Domestic Animals, 3rd ed. New York: Academic Press 1980.
- 33.- Lasta G.E. Revisión Bibliográfica de Líquido Sinovial. Nuevos Aspectos Relacionados a los Proteoglicanos y Glucosaminoglicanos. Analecta Veterinaria. 1998; 18(1/2): 83-98.
- 34.- Smith J.M. Rftzloff M.H. Grant B.D. Frank F.L. The Synovial Fluid Volume of The

Radiocarpal, Intercarpal And Tibiotarsal Joints of the Horse. Synovial Fluid Volume 1979; 10(3): 479-483.

- 35.- Tulamo R. Bramlage L.R. Gabel A.A. The Influence of corticoosteroids on Sequential Clinical and Synovial Fluid Parameters in Joints with Acute Infectious Arthritis in the Horse. Equine Veterinary Journal 1989; 21(5): 332-337.
- 36.- Tulamo R. Bramlage L.R. Gabel A.A. Sequential Clinical and Synovial Fluid Changes Associated with Acute Infectious Arthritis in the Horse. Equine Veterinary Journal 1989; 21(5): 325-331.
- 37.- Lloyd K.C. Stover S. Pascoe J. Adams P. Synovial Fluid PH, Cytologic Characteristics, and Gentamicin Concentration after intra-articular Administration of the Drug in an Experimental Model of Infectious Arthritis in Horses. Am J Vet Res 1990 Sept; 51(9): 1363-1369.
- 38.- Lloyd K.C. Stover S. Pascoe J. Effect of Gentamicin Sulfate and Sodium Bicarbonate on the Synovium of Clinically Normal Equine Antebrachiocarpal Joints. . Am J Vet Res 1985 May; 49(5): 650- 657.
- 39.- Brommer H. Brama P.A.J. Laasanen M.S. Helminen H.J. Weerwn P.R. Jurvelin J.S. Functional Adaptation of Articular Cartilage from Birth to Maturity Under the Influence of Loading: A Biomechanical Analysis. Equine Vet. J. 2005; 37(2): 148-154.
- 40.- Boom R. Brama P. Jeroen de Groot G. Warren P. Assessment of the Effects of Age and Joint Disease on Hydroxyproline and Glucosaminoglycan Concentration in Synovial Fluid from the Metacarpophalangeal Joint of Horses. AJVR 2004; 65(3): 296-302.

- 41.- Mobasheri A, Trujillo E, Bell S, Carter S, Clegg P, Aquaporin water channels AQP1 and AQP3, are expressed in equine articular chondrocytes. *Vet J* 2004; 168 (2): 143-150
- 42.- [Schneider N](#), [Lejeune JP](#), [Deby C](#), [Deby-Dupont GP](#), [Serteyn D](#), Viability of equine articular chondrocytes in alginate beads exposed to different oxygen tensions. *Vet J* 2004; 168 (2): 167- 173.
- 43.- [Phillips T](#), [Ferraz I](#), [Bell S](#), [Clegg PD](#), [Carter SD](#), [Mobasheri A](#). Differential regulation of the GLUT1 and GLUT3 glucose transporters by growth factors and pro-inflammatory cytokines in equine articular chondrocytes. *Vet J*. 2005;169(2):216-22.
- 44.- Lin Z, Willers C, Xu J, Zheng MH. The chondrocyte: biology and clinical application. *Tissue Eng*. 2006 Jul;12(7):1971-84.
- 45.- Mobasheri A, Trujillo E, Bell S, Carter SD, Clegg PD, Martin-Vasallo P, Marples D. Aquaporin water channels AQP1 and AQP3, are expressed in equine articular chondrocytes. *Vet J*. 2004 Sep;168(2):143-50.
- 46.- Carneiro J: Glándulas Endócrinas. En Junqueira, Carneiro (ed) *Histología Básica Texto y Atlas* 5ª ed. Barcelona España: Masson 2004
- 47.- Nikolin B, Imamovic B. High performance liquid chromatography in pharmaceutical analices. *Boson J Basic Med Sci*. 2004 May;4(2): 5-9
- 48.- Clegg P.D, Jones M.D, Carter S.D. The effect of drugs commonly used in the treatment of equine matrix metalloproteinase-2 and 9. *J. Vet. Pharmacol. Therap*. 1998; Oct21(5): 406-413

- 49.- Riviere J.E. Pharmacokinetics Principles, Techniques and Applications. USA, Iowa State University Press/Ames 1999
- 50.- [Wang D](#), [Miller SC](#), [Liu XM](#), [Anderson B](#), [Wang XS](#), [Goldring SR](#). Novel dexamethasone-HPMA copolymer conjugate and its potential application in treatment of rheumatoid arthritis. [Arthritis Res Ther](#). 2007;9(1):R2.
- 51.- [Jaffré B](#), [Watrin A](#), [Loeuille D](#), [Gillet P](#), [Netter P](#), [Laugier P](#), [Saïed A](#). Effects of antiinflammatory drugs on arthritic cartilage: a high-frequency quantitative ultrasound study in rats. [Arthritis Rheum](#). 2003 Jun;48(6):1594-601.
- 52.- [Yang YH](#), [Morand EF](#), [Getting SJ](#), [Paul-Clark M](#), [Liu DL](#), [Yona S](#), [Hannon R](#), [Buckingham JC](#), [Perretti M](#), [Flower RJ](#). Modulation of inflammation and response to dexamethasone by Annexin 1 in antigen-induced arthritis. [Arthritis Rheum](#). 2004 Mar;50(3):976-84.
- 53.- [Makrygiannakis D](#), [af Klint E](#), [Catrina SB](#), [Botusan IR](#), [Klareskog E](#), [Klareskog L](#), [Ulfgrén AK](#), [Catrina AI](#). Intraarticular corticosteroids decrease synovial RANKL expression in inflammatory arthritis. [Arthritis Rheum](#). 2006 May;54(5):1463-72.
- 54.- [Jaffré B](#), [Watrin A](#), [Loeuille D](#), [Gillet P](#), [Netter P](#), [Laugier P](#), [Saïed A](#). Effects of antiinflammatory drugs on arthritic cartilage: a high-frequency quantitative ultrasound study in rats. [Arthritis Rheum](#). 2003 Jun;48(6):1594-601.
- 55.- [Stein A](#), [Yassouridis A](#), [Szopko C](#), [Helmke K](#), [Stein C](#). Intraarticular morphine versus dexamethasone in chronic arthritis. [Pain](#). 1999 Dec;83(3):525-32.
- 56.- [Hurson CJ](#), [Butler JS](#), [Keating DT](#), [Murray DW](#), [Sadlier DM](#), [O'Byrne JM](#), [Doran PP](#). Gene expression analysis in human osteoblasts exposed to dexamethasone identifies altered developmental pathways as putative drivers of osteoporosis. [BMC Musculoskelet Disord](#). 2007 Feb 12;8:12.

57.- [Stöve J](#), [Schöniger R](#), [Huch K](#), [Brenner R](#), [Günther KP](#), [Puhl W](#), [Scharf HP](#). Effects of dexamethasone on proteoglycan content and gene expression of IL-1beta-stimulated osteoarthrotic chondrocytes in vitro. [Acta Orthop Scand](#). 2002 Oct;73(5):562-7.

FIGURAS

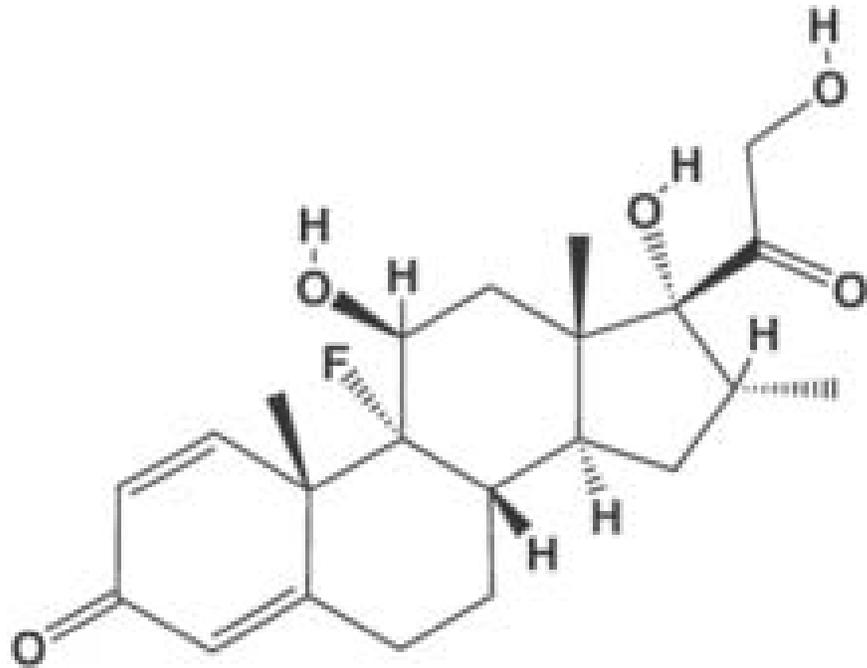


Figura 1.- Estructura Química de la Dexametasona.

Tomado de: Dexamethasone Formulation Available from

URL:<http://en.wikipedia.org/wiki/Dexamethasone>

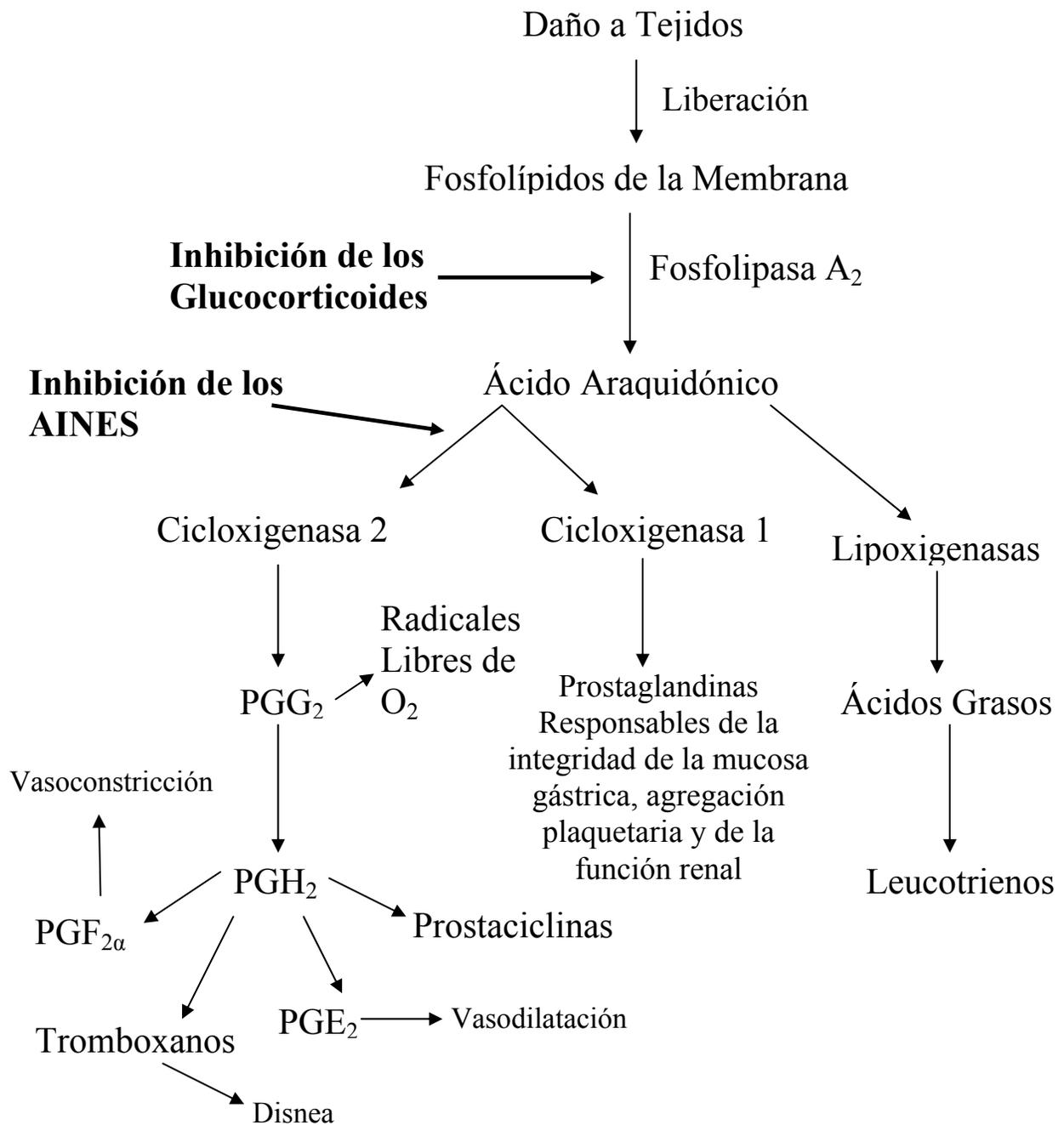


Figura 2.- Representación esquemática de los eventos de la cascada de la inflamación.
 Tomado de: Mc Ilwraith, Trotter. Joint Disease in the Horse. USA: W.B. Saunders 1996.

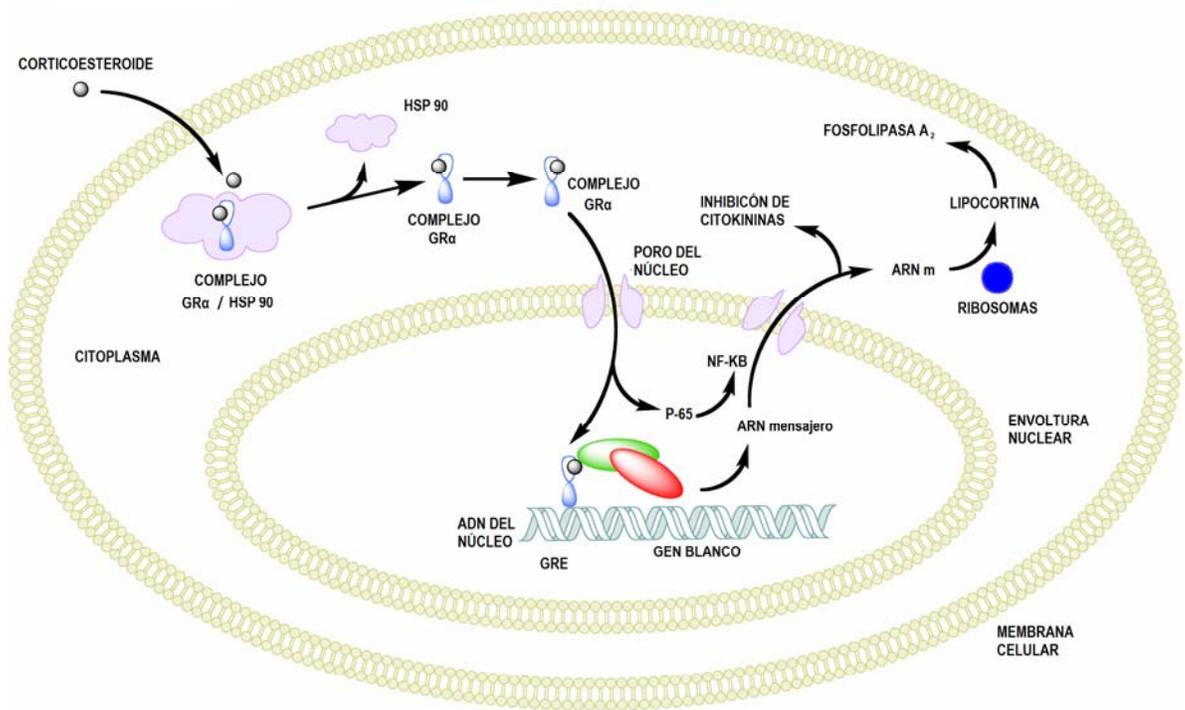


Figura 3.- Representación esquemática de la interacción de los corticoesteroides con el receptor ($GR\alpha$) del citoplasma, esta unión influye la transcripción nuclear del ARN mensajero y la formación de este conlleva a la producción de una proteína responsable de la atenuación de la función celular.

Tomado de: Stenberg M.E. Neural regulation of innate immunity: a coordinated nonspecific host response to pathogens. *Nature Reviews Immunology*. 2006;6:318-328.

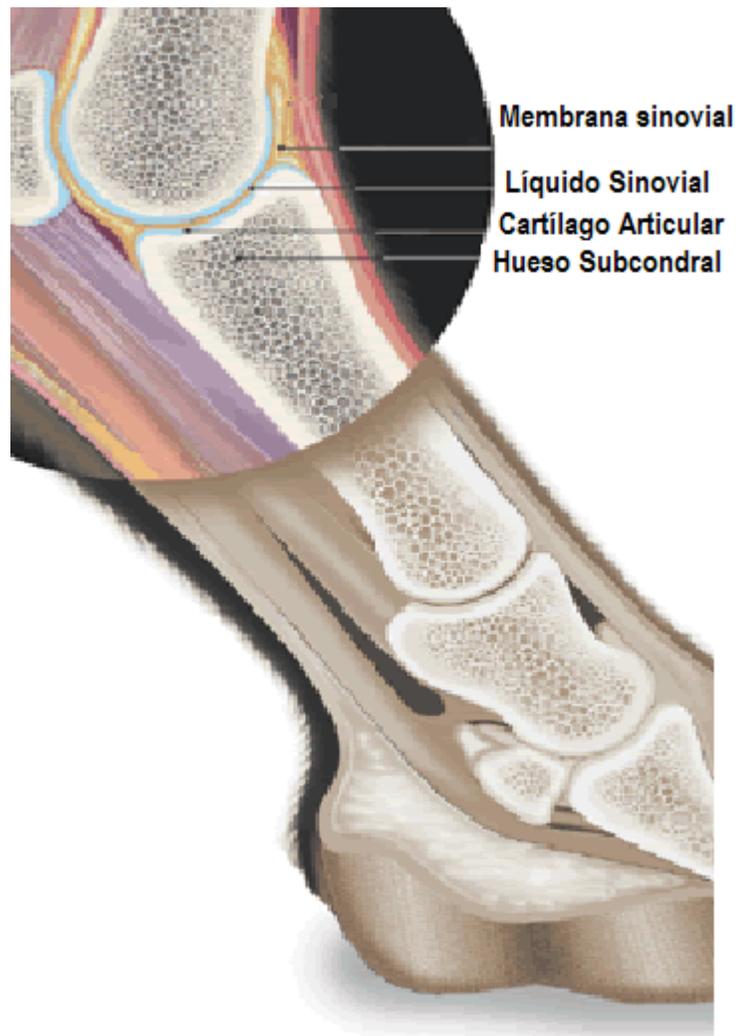


Figura 4.- Corte transversal de una articulación sinovial.

Tomado de: http://www.equisearch.com/horses_care/health/lameness/hyaluronan_120304/



Figura 5.- Desgaste del cartilago articular.

Tomado de: © DePuy Orthopaedics, Inc. 2000-2006.

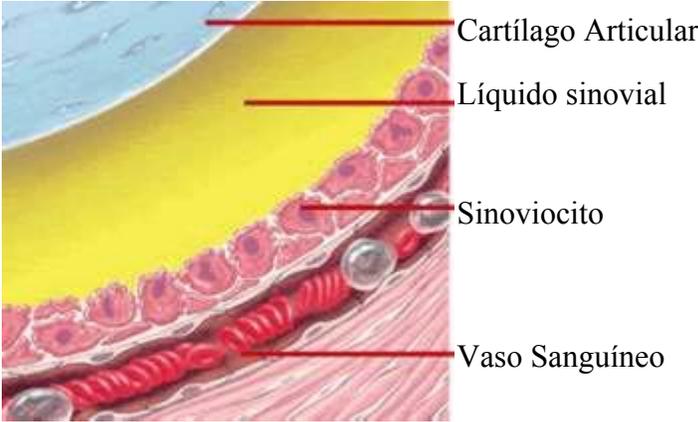


Figura 6.- Estructuras que componen la articulación sinovial.

Tomado de: Bayer, Equine Joint Disease: (hyaluronate Sodium).USA: Bayer Health Care LLC, 2003

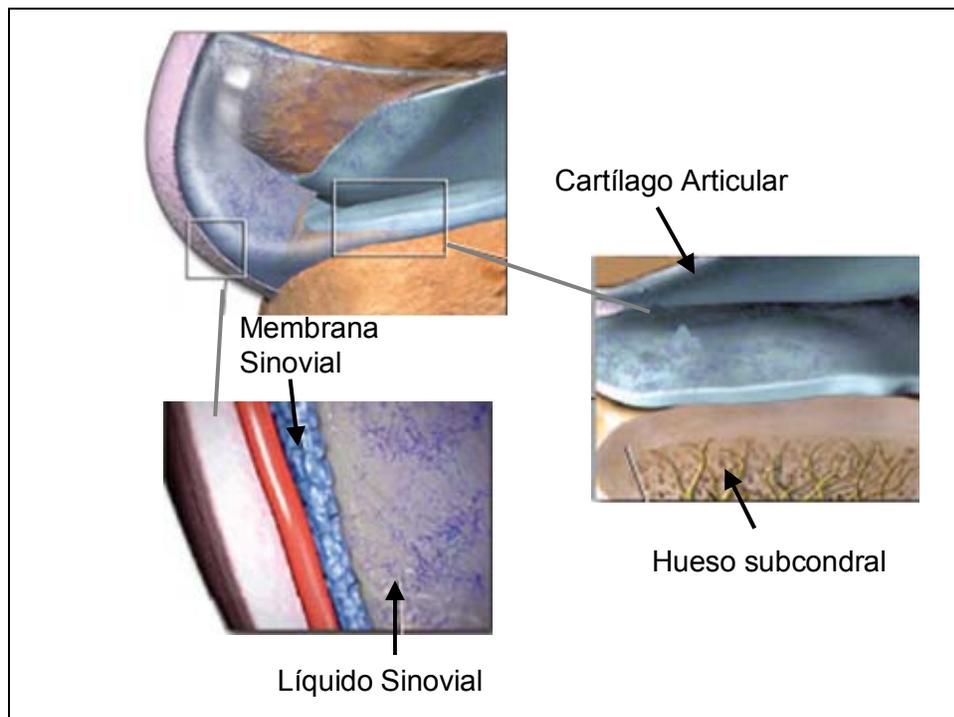


Figura 7.- Estructuras que componen la articulación sinovial.

Tomado de: <http://www.luitpoldanimalhealth.com/>

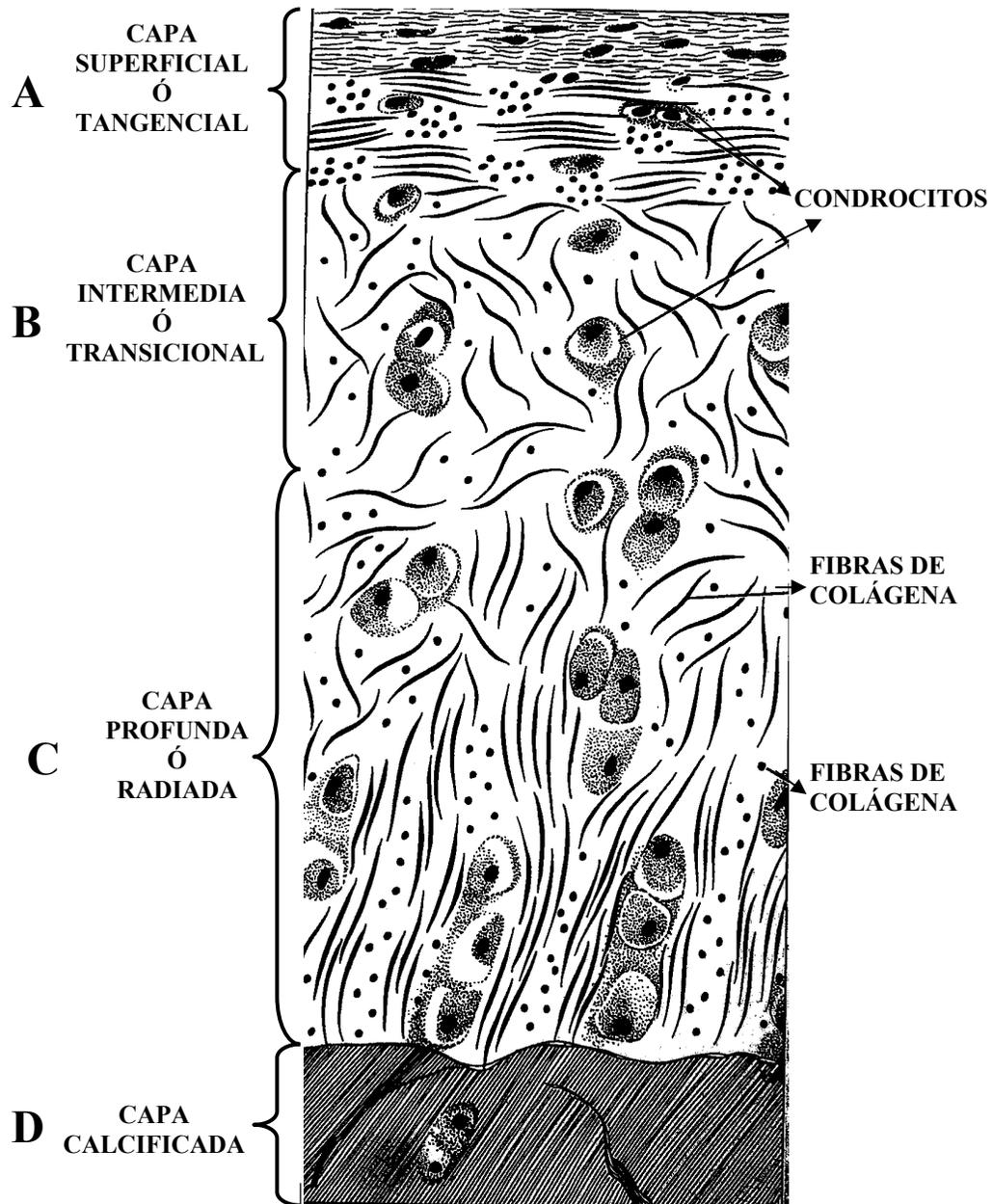


Figura 8.- Diagrama que muestra las 4 capas del cartilago articular de un caballo adulto
 Tomado de: Stashak TS. Adams' Lameness in Horses. USA: Lipponcatt Williams &
 Wilkins 2002.

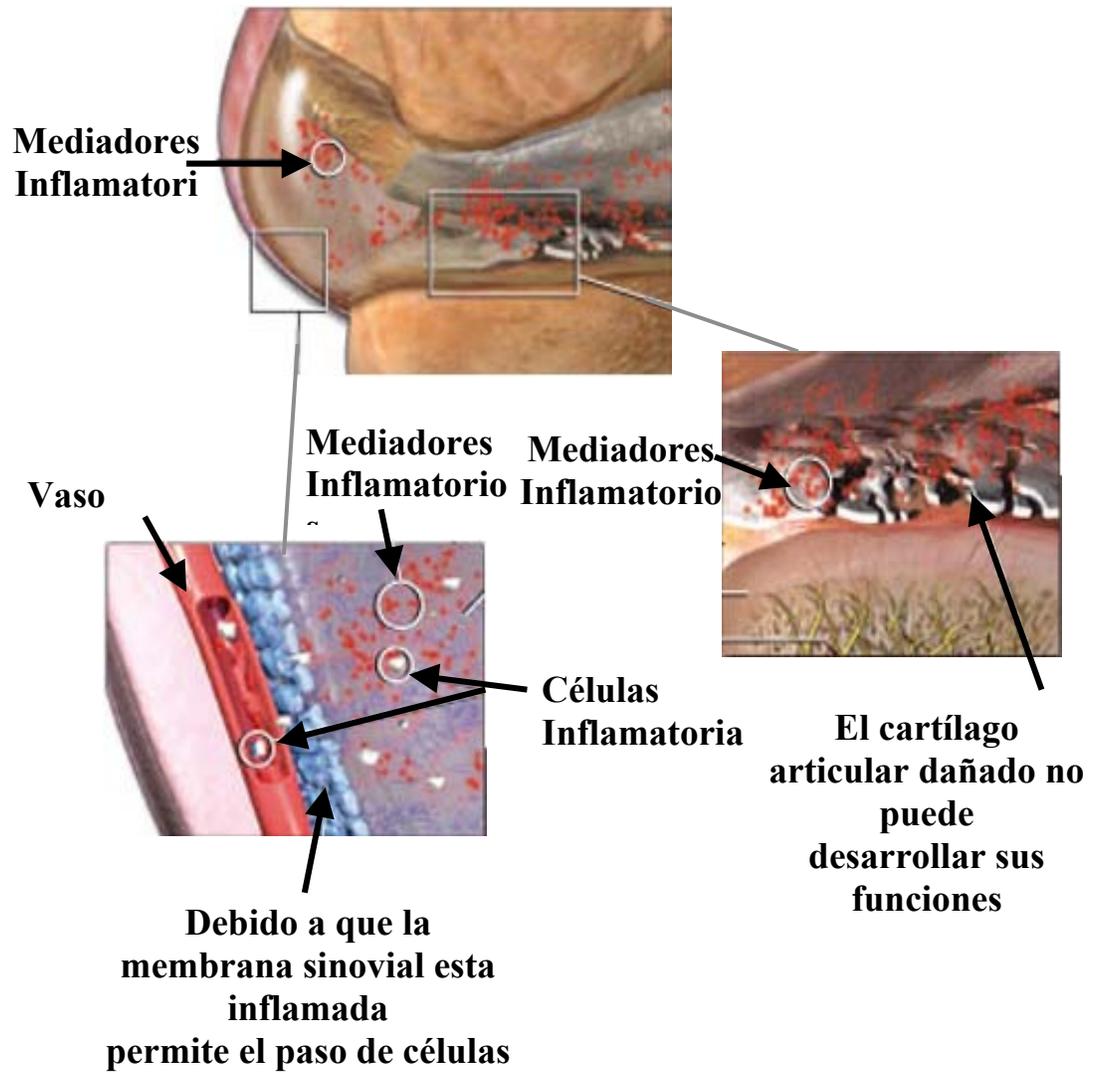


Figura 9.- Serie de eventos presentes en la Enfermedad Articular Degenerativa.

Tomado de: <http://www.luitpoldanimalhealth.com/>

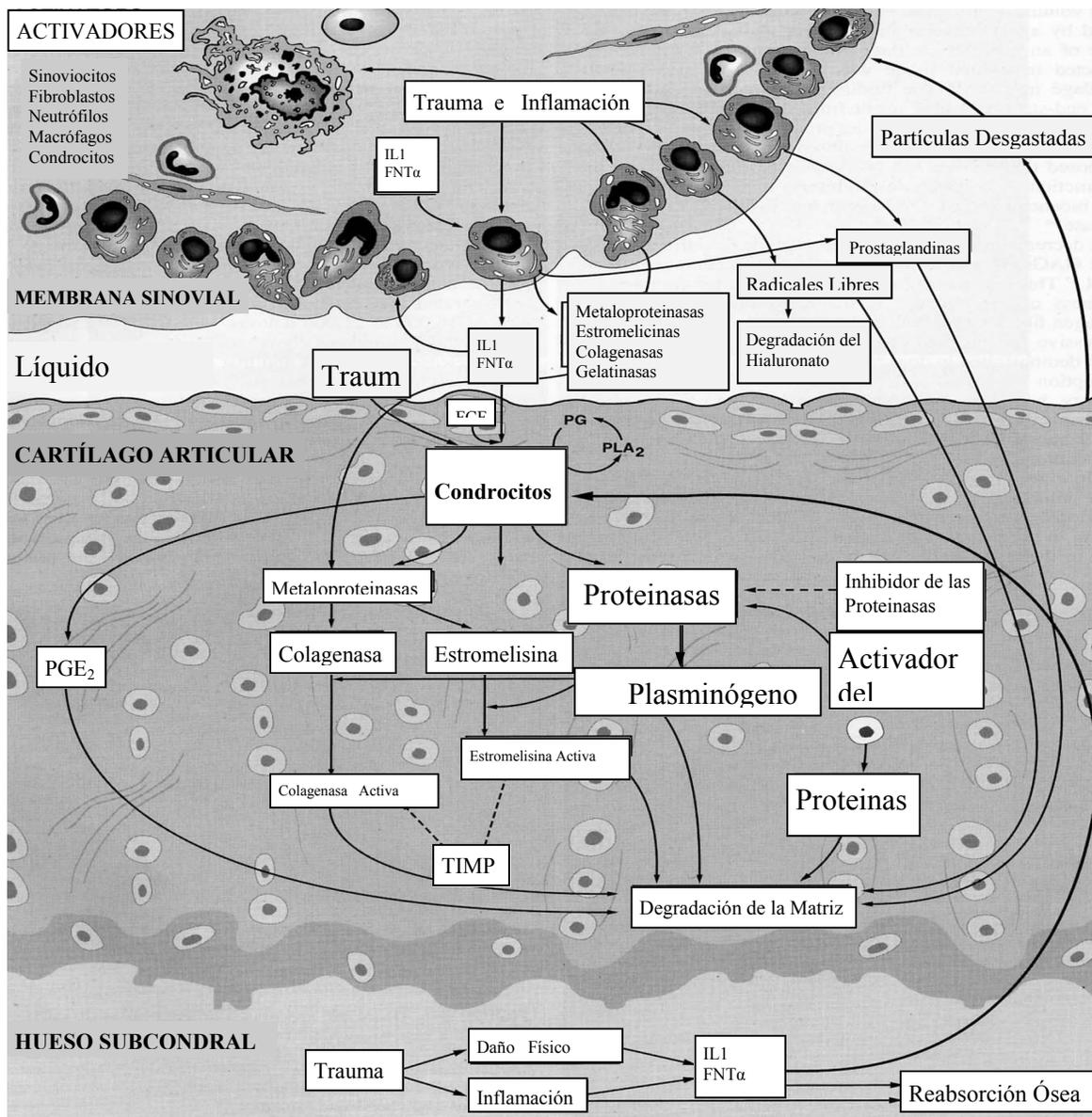


Figura 10.- Factores involucrados en la degradación enzimática de la matriz del cartílago articular; IL1 = Interleucina 1, FNT α = Factor de Necrosis Tumoral α , FCF = Factor de Crecimiento de los Fibroblastos, PG = Prostaglandinas, FLA $_2$ = Fosfolipasa A $_2$, AP = Activador del Plasminógeno, PGE $_2$ = Prostaglandina E $_2$, TIMP = Tejido Inhibidor de las Metaloproteinasas.

Tomado de: Mc Ilwraith, Trotter. Joint Disease in the Horse. USA: W.B. Saunders 1996.

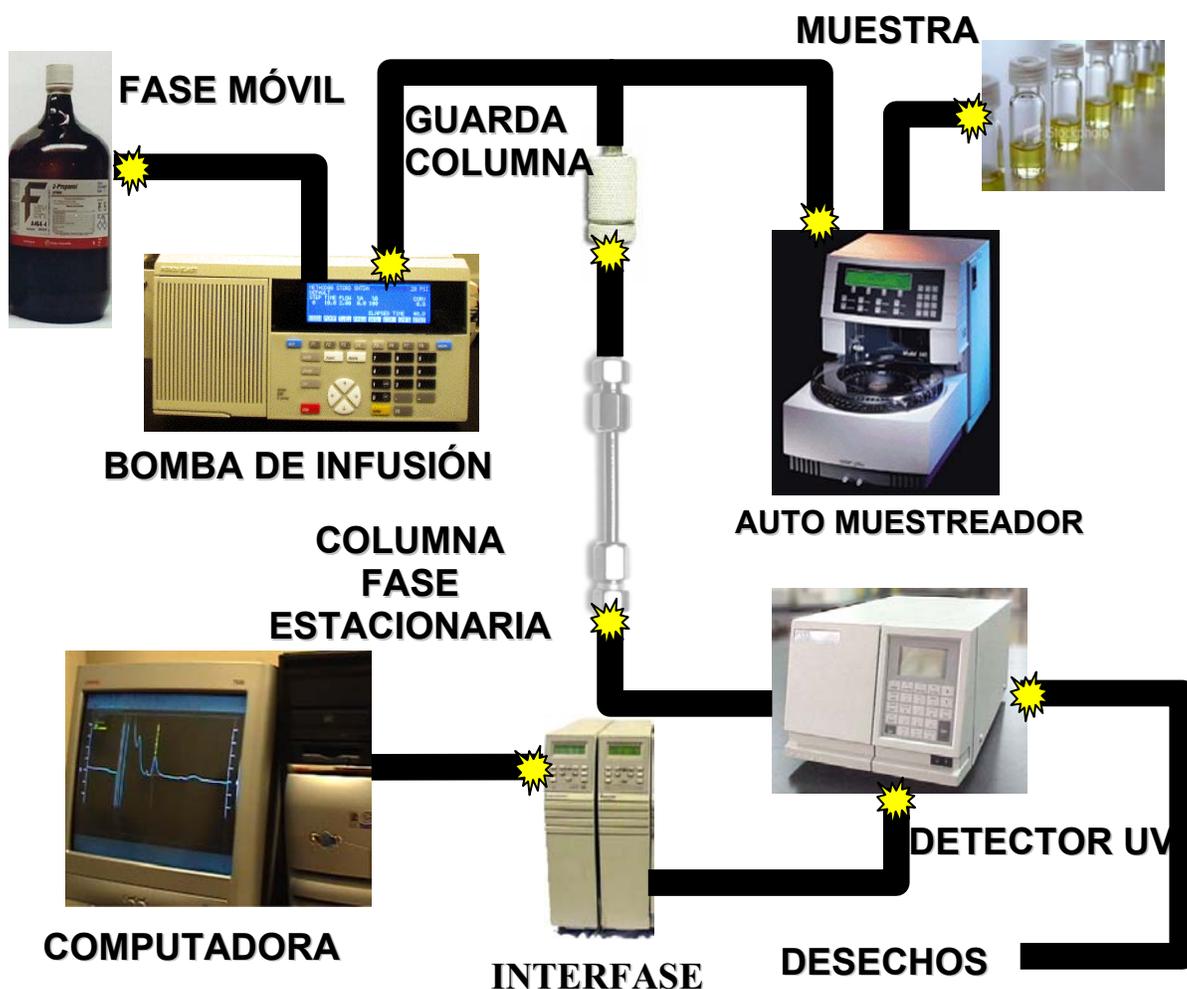


Figura 11.- Esquema de la Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución. Donde por un lado la muestra es inyectada por el auto muestreador (Perkin Elmer 200), y por otro la fase móvil (70mM K-fosfato/ metanol/ tetrahidrofurano (560:400:40)), impulsada por la Bomba de Infusión (Perkin Elmer 200 LC), ambas pasan por la Guarda Columna C18 y posteriormente a la Columna C18 la cual es denominada fase estacionaria, al eluir el compuesto este pasa al Detector de Rayos Ultravioleta (Perkin Elmer 785A) el cual detecta la presencia de fármaco, posteriormente la informaciones es transmitida a la interfase la cual integra la señal y la transfiere a la computadora para poder ser interpretada.

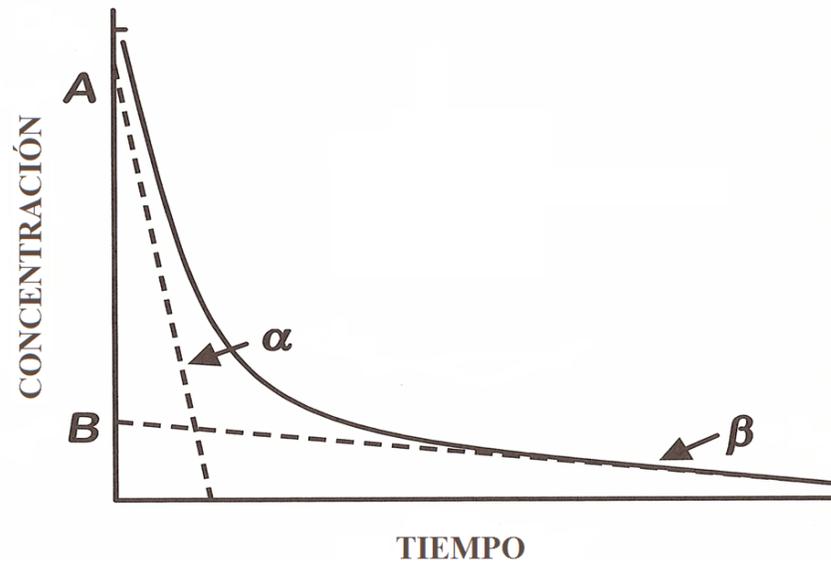


Figura 12.- Ejemplificación de una cinética de dos compartimentos. A: Extrapolación de la línea alfa a cero, B: Extrapolación de la línea beta a cero, α : fase de distribución del fármaco, β : fase de equilibrio y eliminación del fármaco .

Tomado de: Riviere J.E. Pharmacokinetics Principles, Techniques and Applications. USA, Iowa State University Press/Ames 1999.

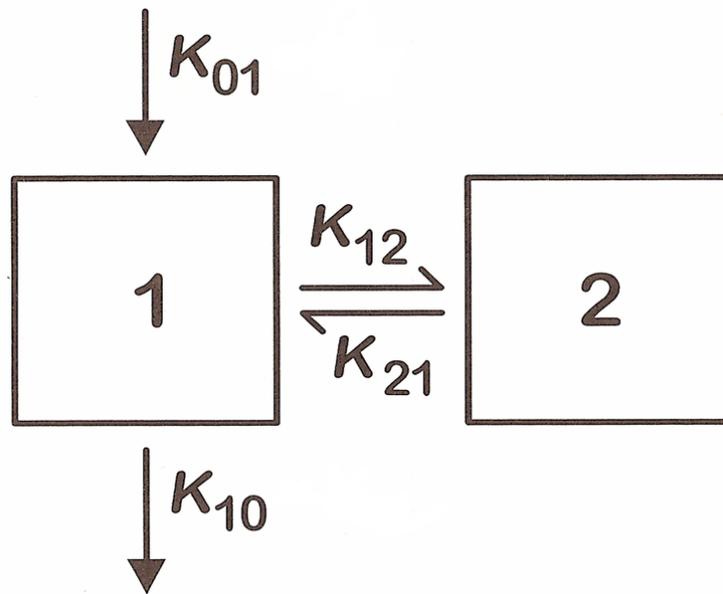


Figura 13.- Modelo farmacocinético de dos compartimentos; K_{01} : Administración del fármaco, 1: Primer compartimento, 2: segundo compartimento, K_{10} : Eliminación del fármaco, K_{12} : Paso de fármaco del compartimento uno al compartimento dos, K_{21} : Paso del fármaco del compartimento dos al compartimento uno.

Tomado de: Riviere J.E. Pharmacokinetics Principles, Techniques and Applications. USA, Iowa State University Press/Ames 1999.

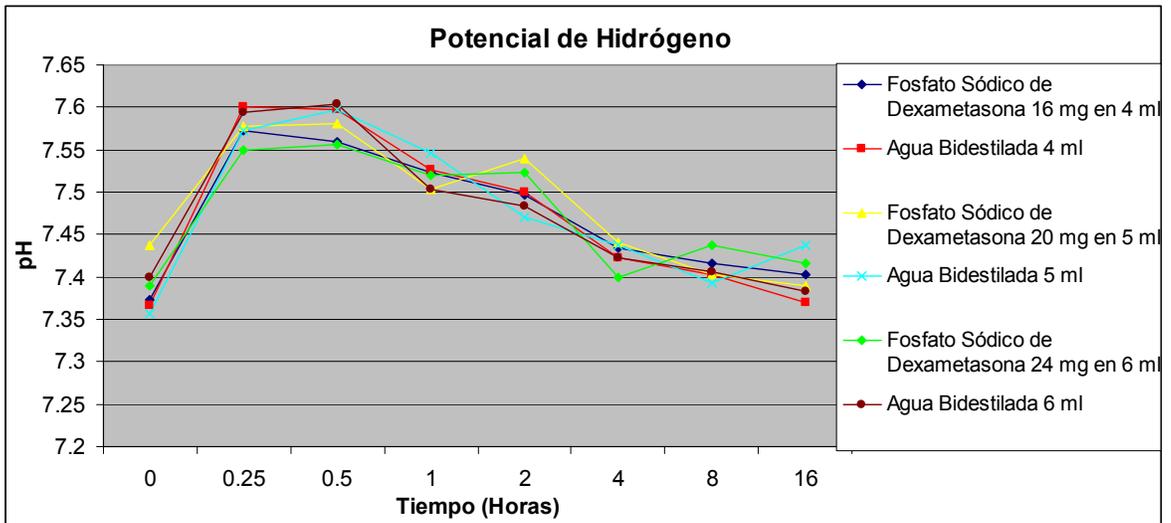


Figura 14.- Cambios del Potencial de Hidrógeno en el líquido sinovial de la articulación radio carpal inyectada con fosfato sódico de dexametasona y agua bidestilada.

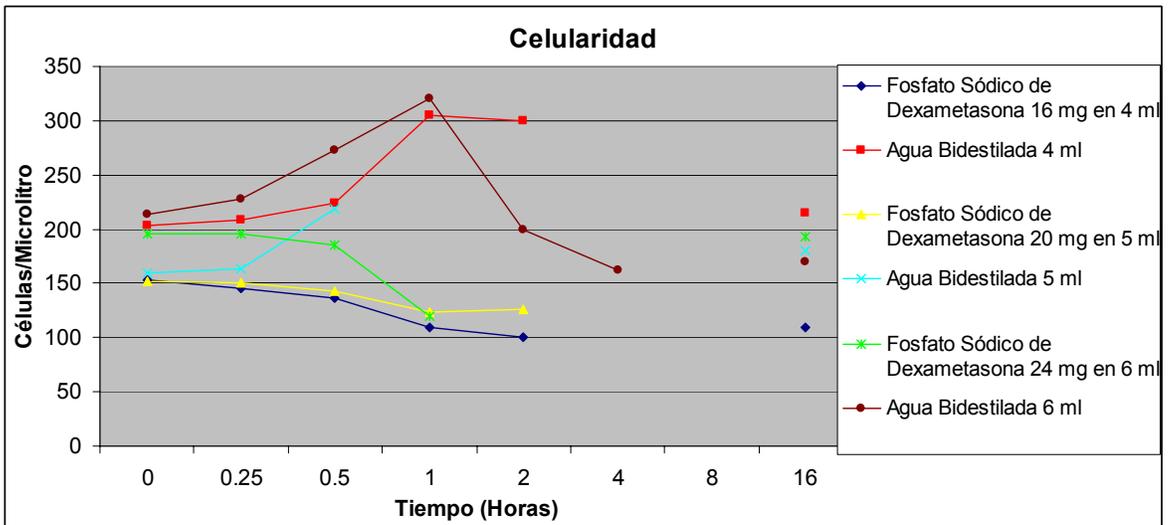


Figura 15.- Cambios en la Celularidad (cel/microlitro) en el líquido sinovial de la articulación radio carpal inyectada con fosfato sódico de dexametasona y agua bidestilada.

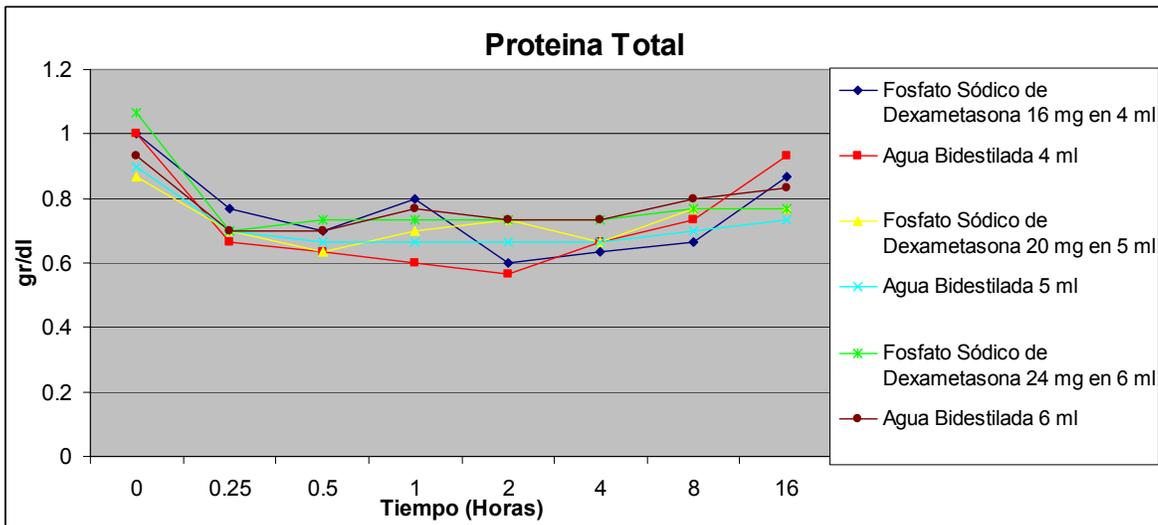


Figura 16.- Cambios en la Proteína Total (gr/dl) en el líquido sinovial de la articulación radio carpal inyectada con fosfato sódico de dexametasona y agua bidestilada.

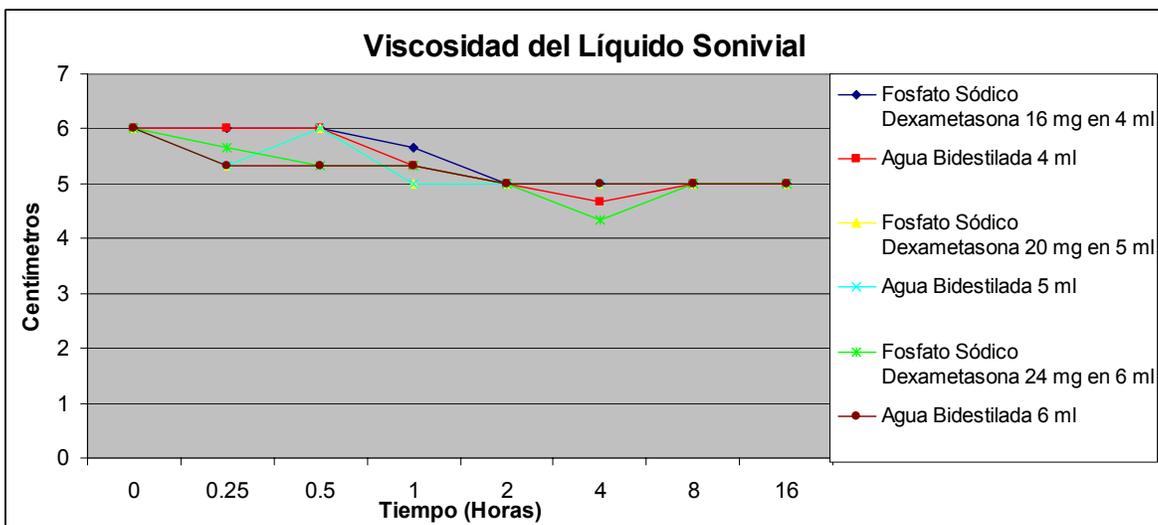


Figura 17.- Cambios en la Viscosidad (cm) del líquido sinovial en la articulación radio carpal inyectada con fosfato sódico de dexametasona y agua bidestilada.

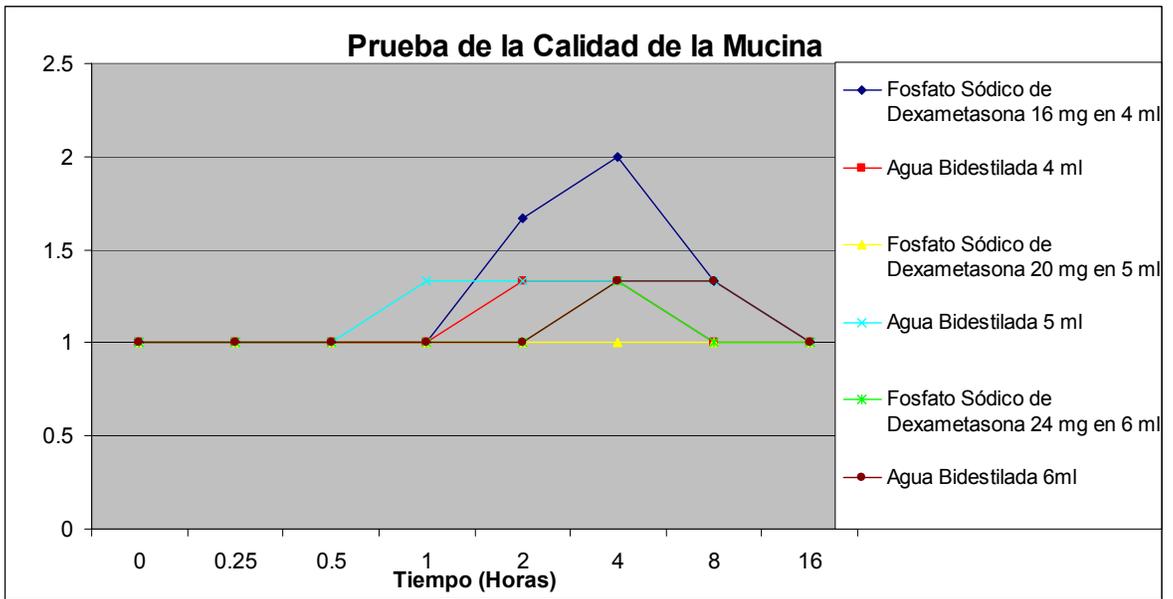


Figura 18.- Prueba de la Calidad de la Mucina del líquido sinovial en la articulación radio carpal inyectada con fosfato sódico de dexametasona y agua bidestilada.

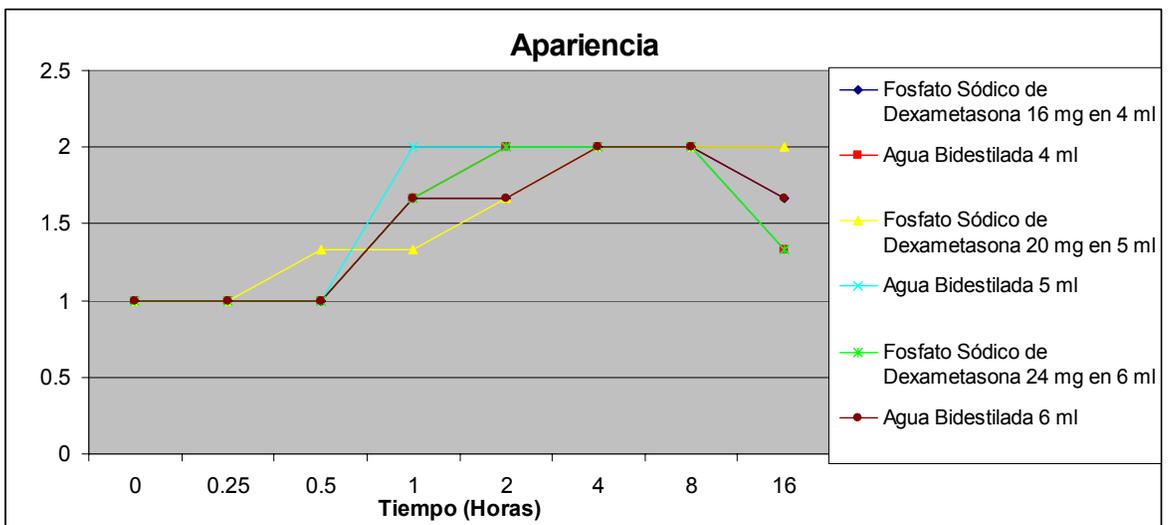


Figura 19.- Cambios en la Apariencia del líquido sinovial de la articulación radio carpal inyectada con fosfato sódico de dexametasona y agua bidestilada .

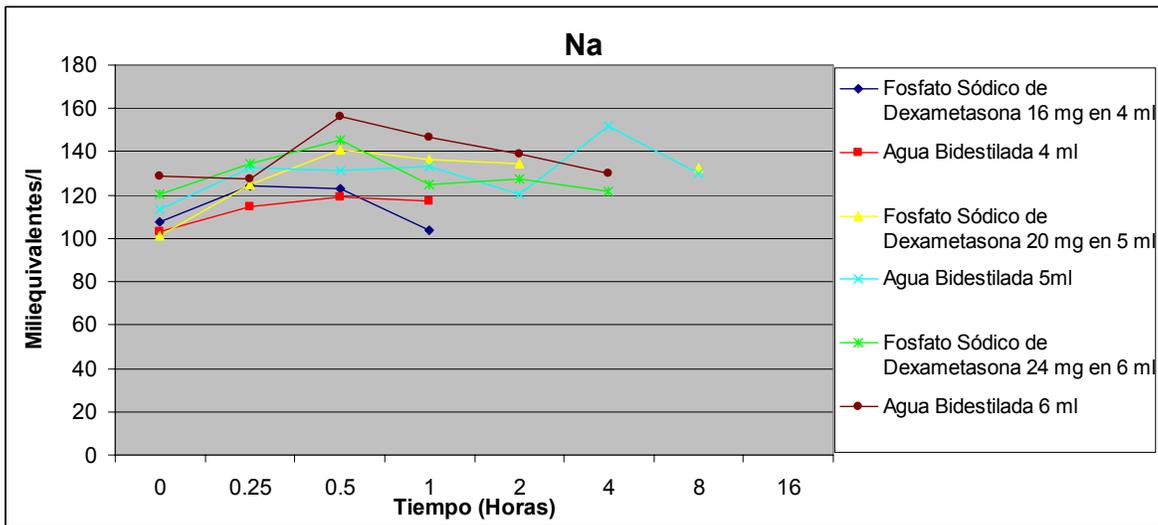


Figura 20.- Cambios en el Sodio (mEq/L) en el líquido sinovial de la articulación radio carpal inyectada con fosfato sódico de dexametasona y agua bidestilada.

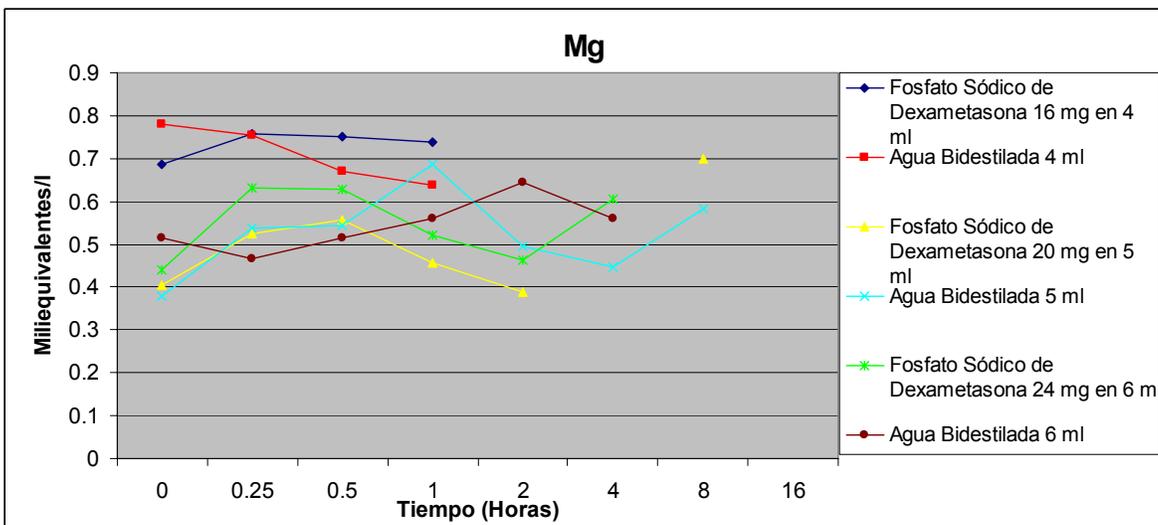


Figura 21.- Cambios en el Magnesio (mEq/L) en el líquido sinovial de la articulación radio carpal inyectada con fosfato sódico de dexametasona y agua bidestilada.

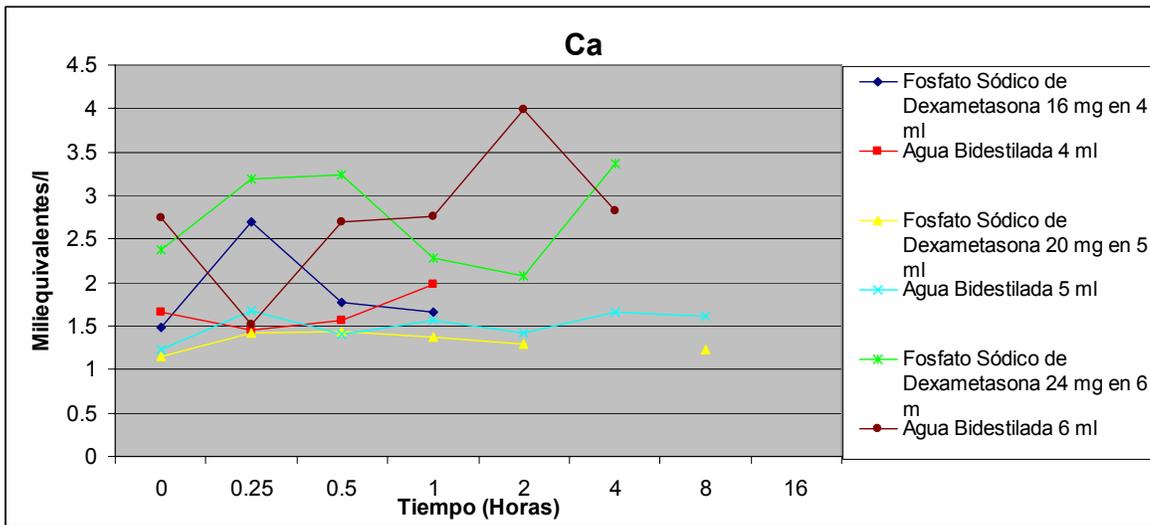


Figura 22.- Cambios en el Calcio (mEq/L) en el líquido sinovial de la articulación radio carpal inyectada con fosfato sódico de dexametasona y agua bidestilada.

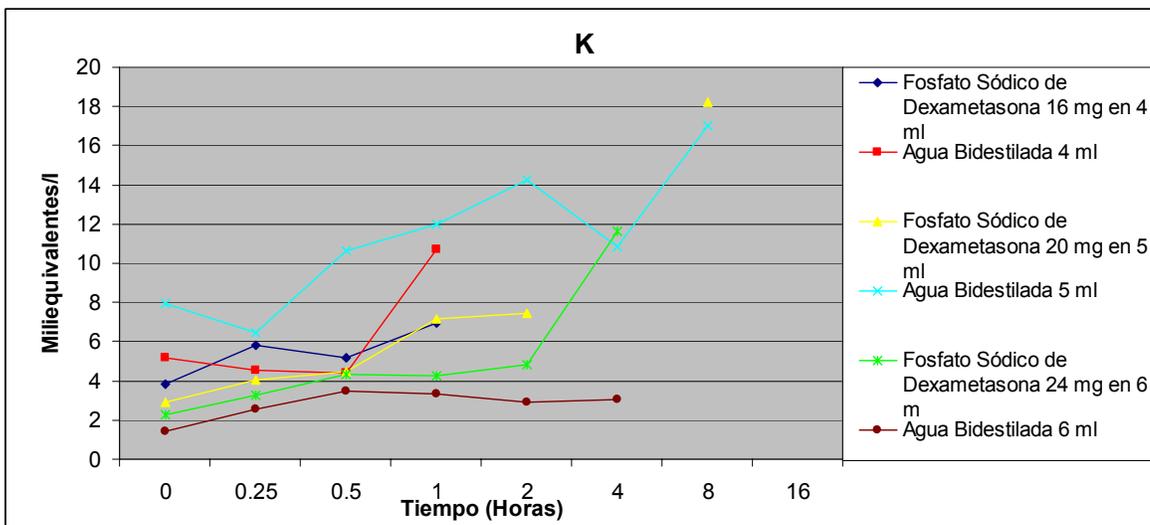


Figura 23.- Cambios en el Potasio (mEq/L) en el líquido sinovial de la articulación radio carpal inyectada con fosfato sódico de dexametasona y agua bidestilada.

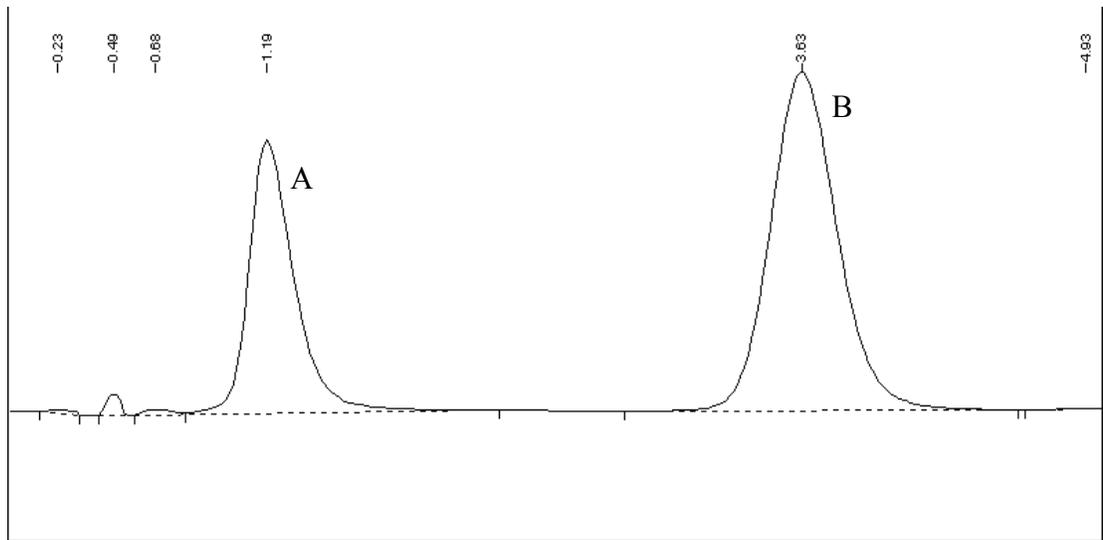


Figura 24.- Cromatograma del estándar de Fosfato Sódico de Dexametasona y de Dexametasona. La curva A corresponde al Fosfato Sódico de Dexametasona y la curva B a la Dexametasona.

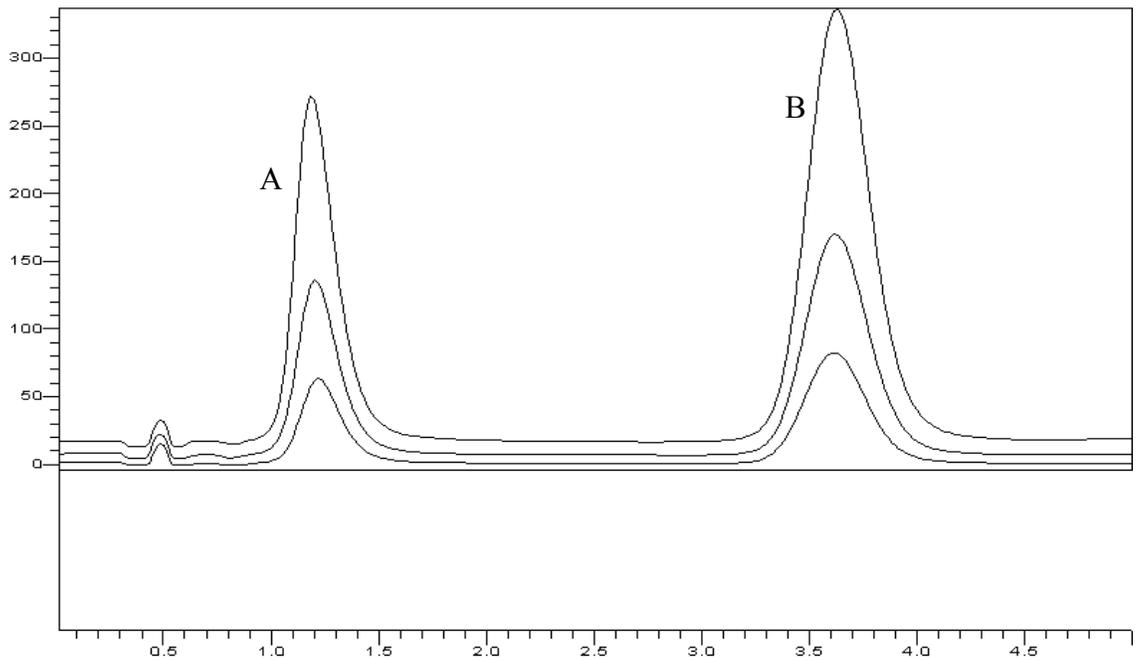


Figura 25.- Cromatograma de los estándares de Fosfato Sódico de Dexametasona y de Dexametasona a una concentración de 0.25, 0.125 y 0.0625 mg/ml respectivamente. La curva A corresponde al Fosfato Sódico de Dexametasona y la curva B a la Dexametasona.

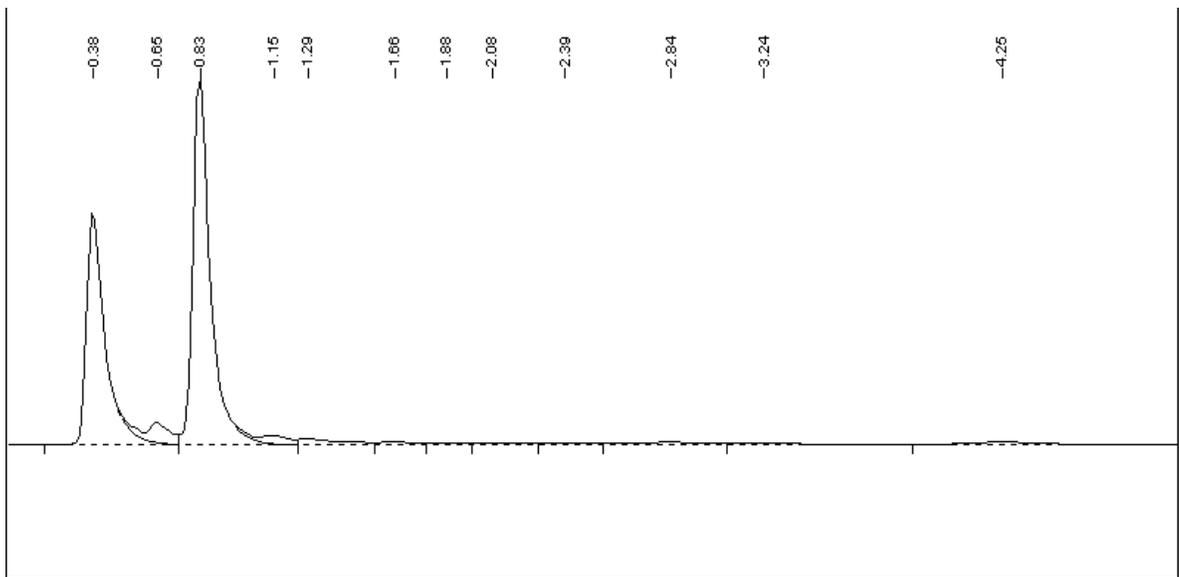


Figura 26.- Cromatograma del Fosfato Sódico de Dexametasona y de la Dexametasona a dosis de 24 mg a la hora cero. Donde no se detecto el fármaco.

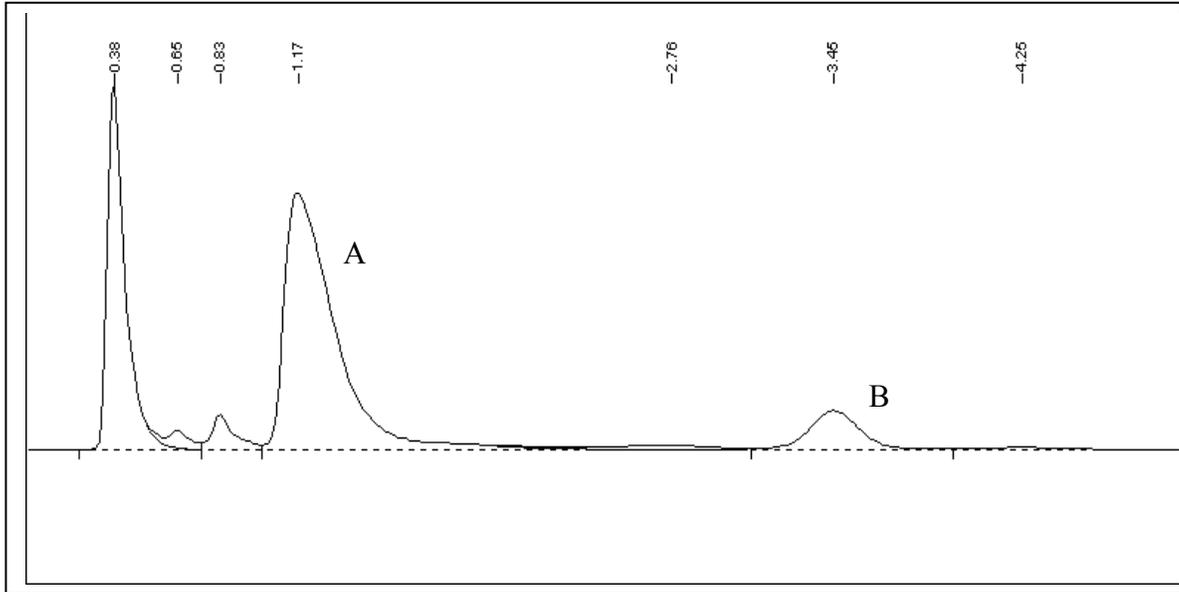


Figura 27.- Cromatograma del Fosfato Sódico de Dexametasona y de la Dexametasona a dosis de 24 mg a la hora .25. La curva A corresponde al Fosfato Sódico de Dexametasona y la curva B a la Dexametasona.



Figura 28.- Relación entre la concentración sobre tiempo del Fosfato Sódico de Dexametasona y la Dexametasona intra-articular en el líquido sinovial a dosis de 16 mg.

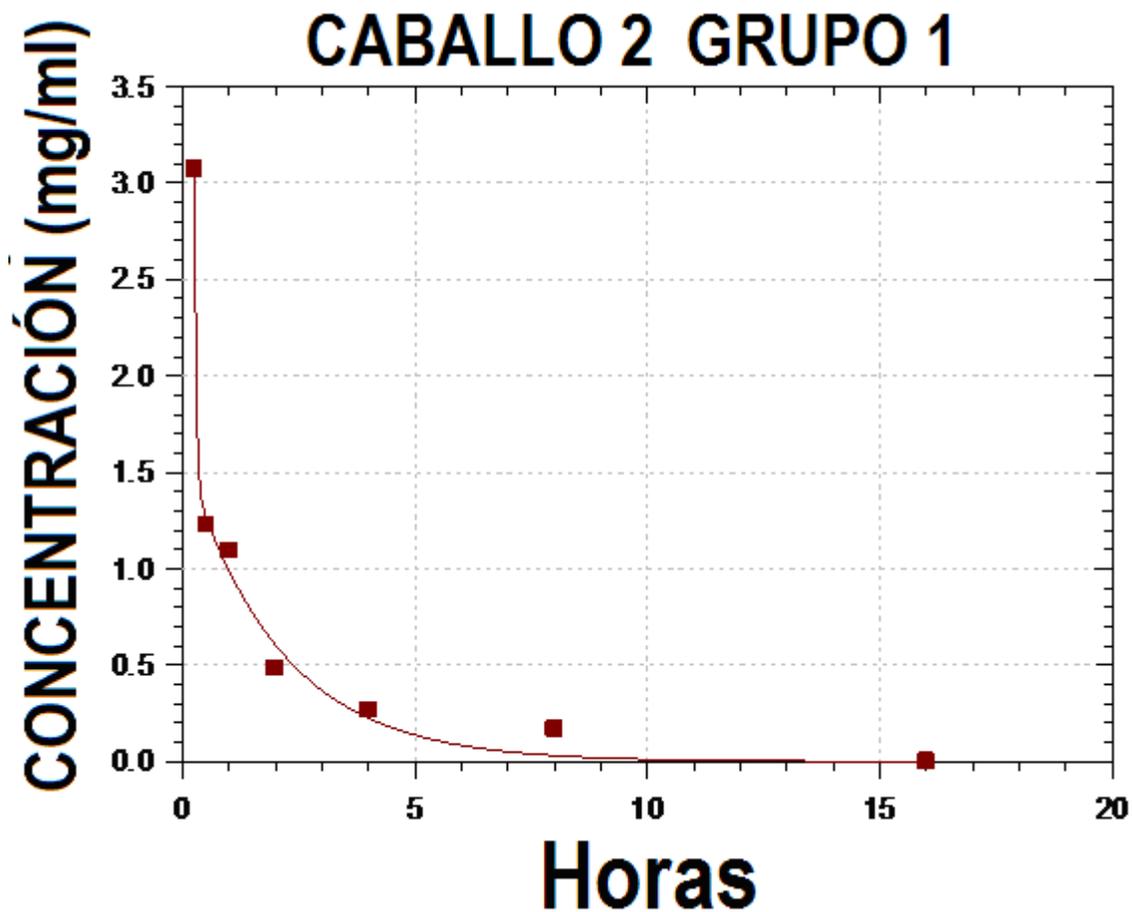


Figura 29.- Relación entre la concentración sobre tiempo del Fosfato Sódico de Dexametasona y la Dexametasona intra-articular en el líquido sinovial a dosis de 16 mg.

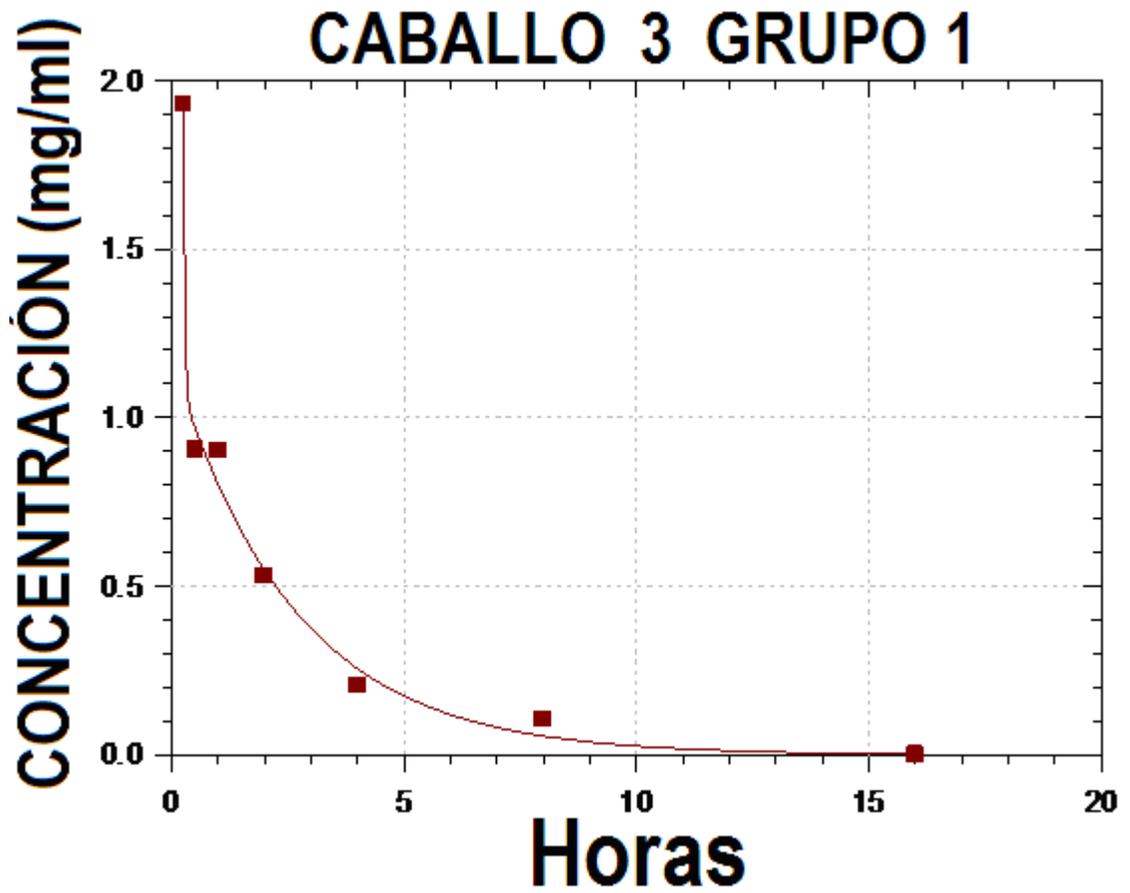


Figura 30.- Relación entre la concentración sobre tiempo del Fosfato Sódico de Dexametasona y la Dexametasona intra-articular en el líquido sinovial a dosis de 16 mg.

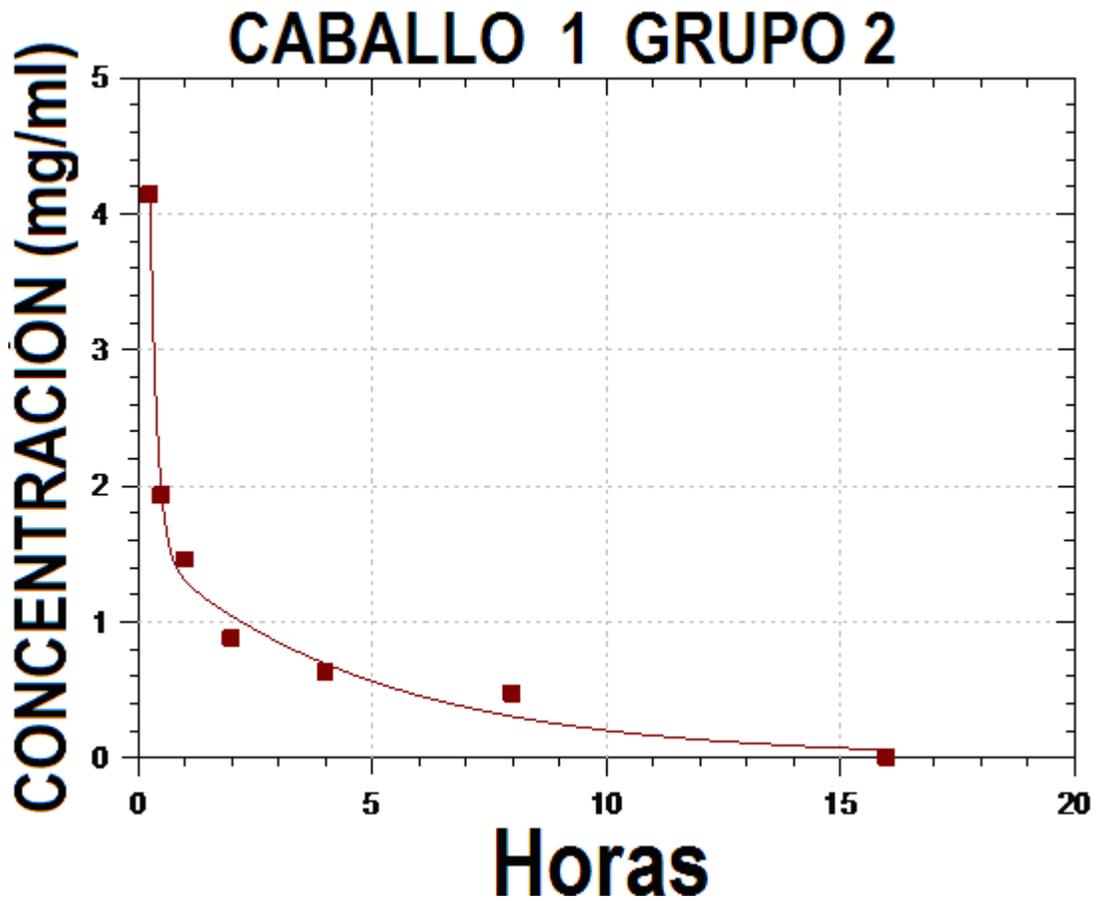


Figura 31.- Relación entre la concentración sobre tiempo del Fosfato Sódico de Dexametasona y la Dexametasona intra-articular en el líquido sinovial a dosis de 20 mg.

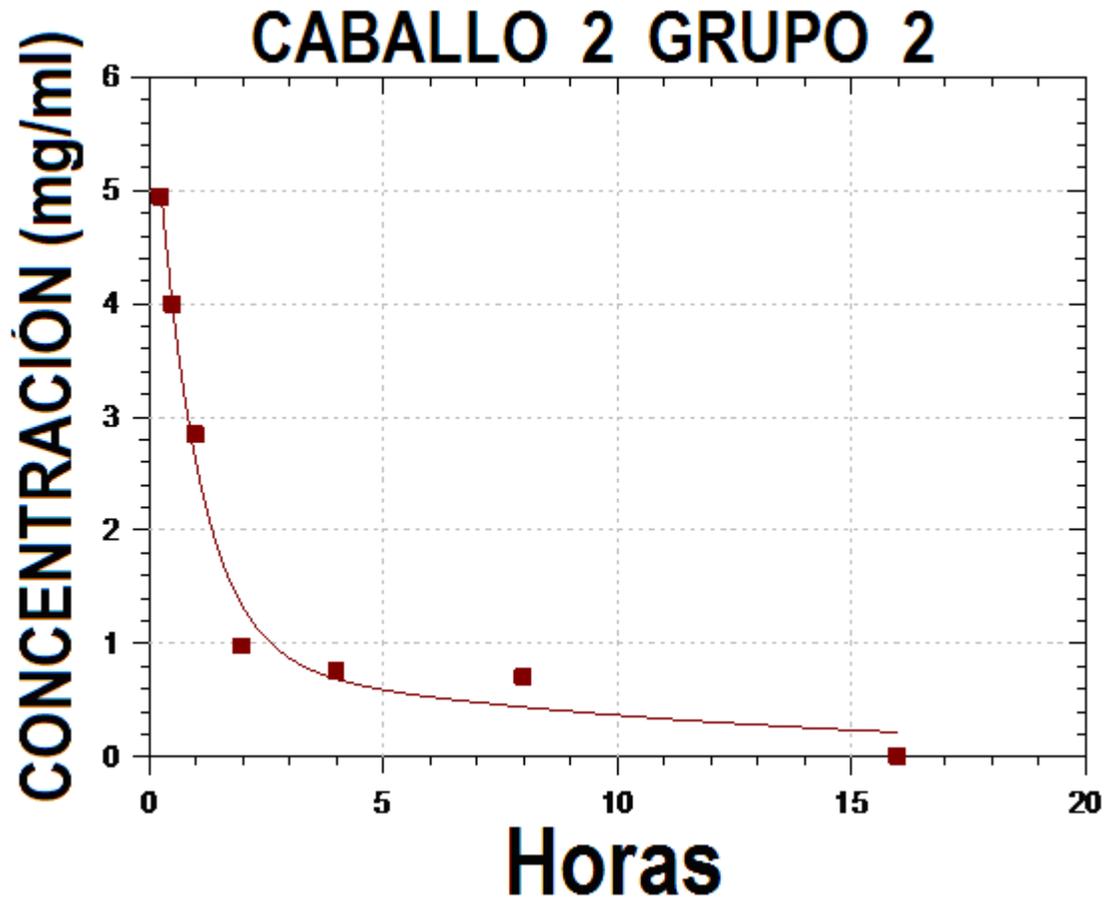


Figura 32.- Relación entre la concentración sobre tiempo del Fosfato Sódico de Dexametasona y la Dexametasona intra-articular en el líquido sinovial a dosis de 20 mg.

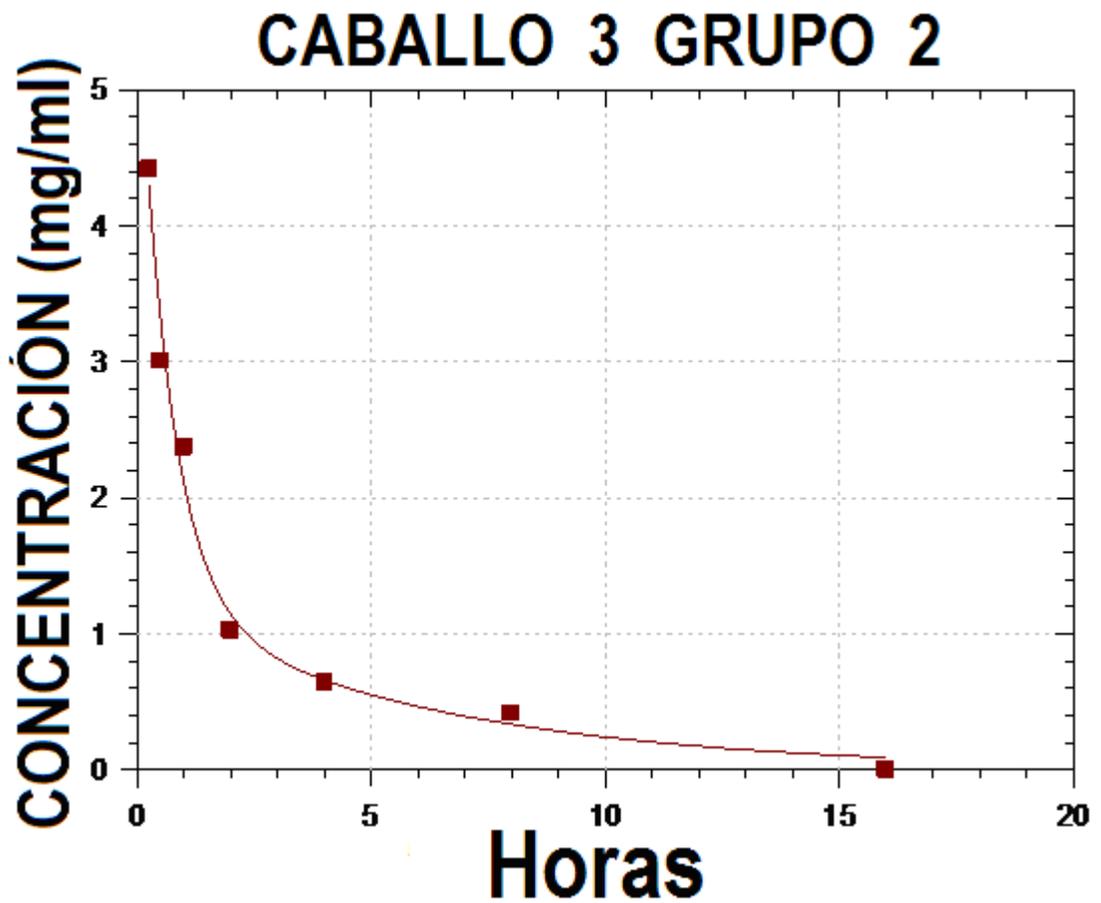


Figura 33.- Relación entre la concentración sobre tiempo del Fosfato Sódico de Dexametasona y la Dexametasona intra-articular en el líquido sinovial a dosis de 20 mg.

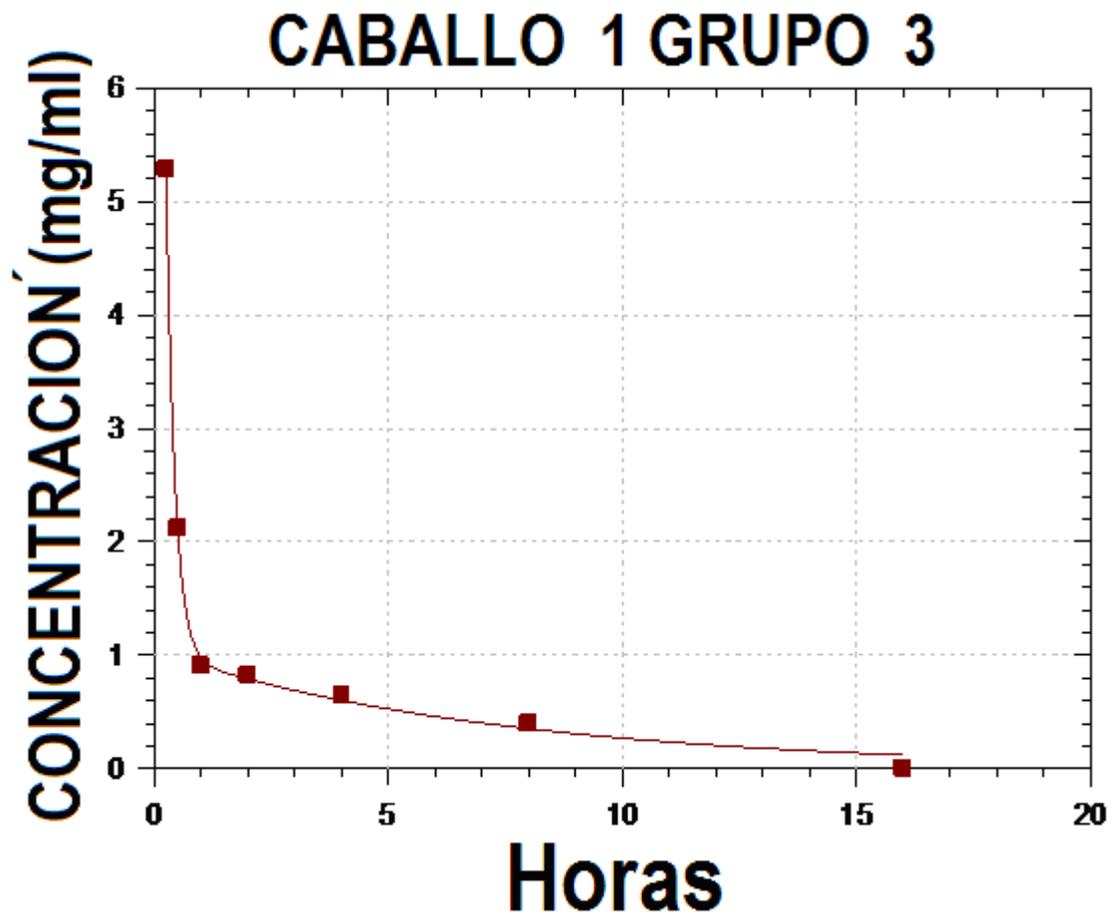


Figura 34.- Relación entre la concentración sobre tiempo del Fosfato Sódico de Dexametasona y la Dexametasona intra-articular en el líquido sinovial a dosis de 24 mg.

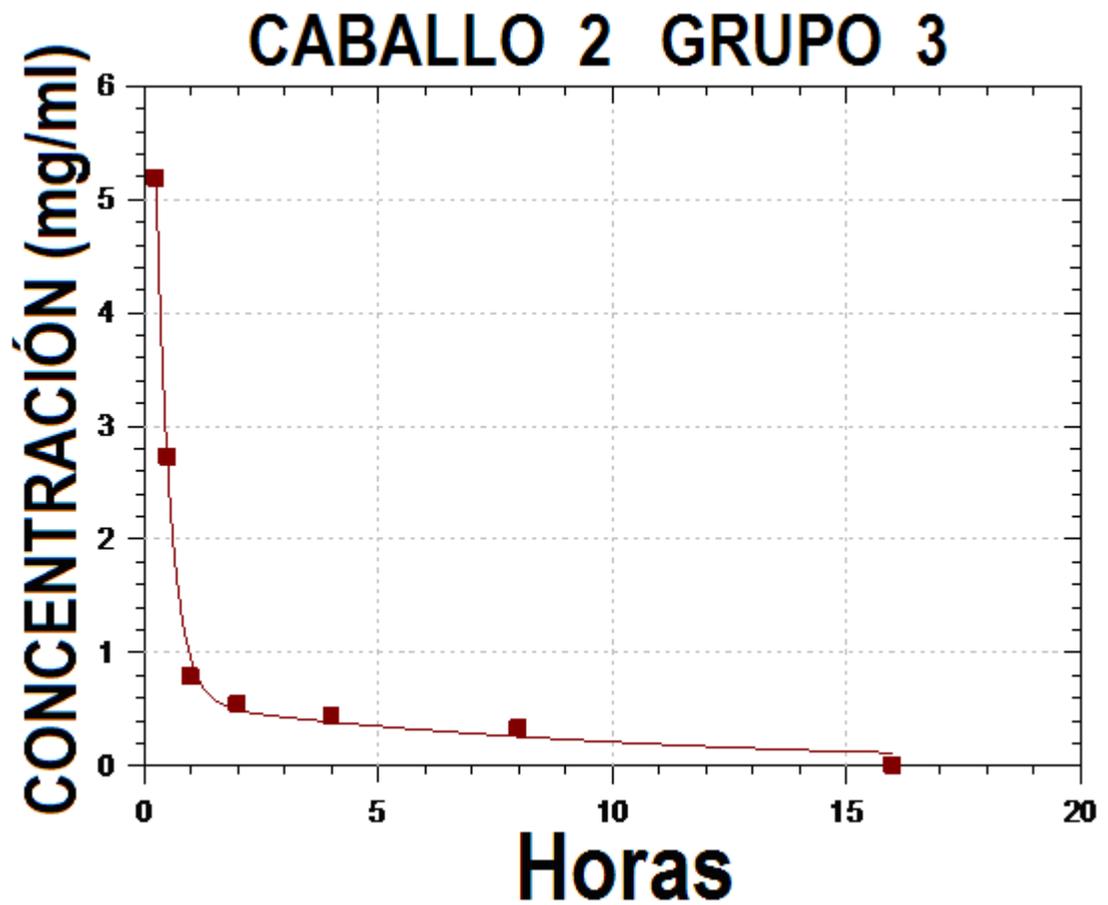


Figura 35.- Relación entre la concentración sobre tiempo del Fosfato Sódico de Dexametasona y la Dexametasona intra-articular en el líquido sinovial a dosis de 24 mg.

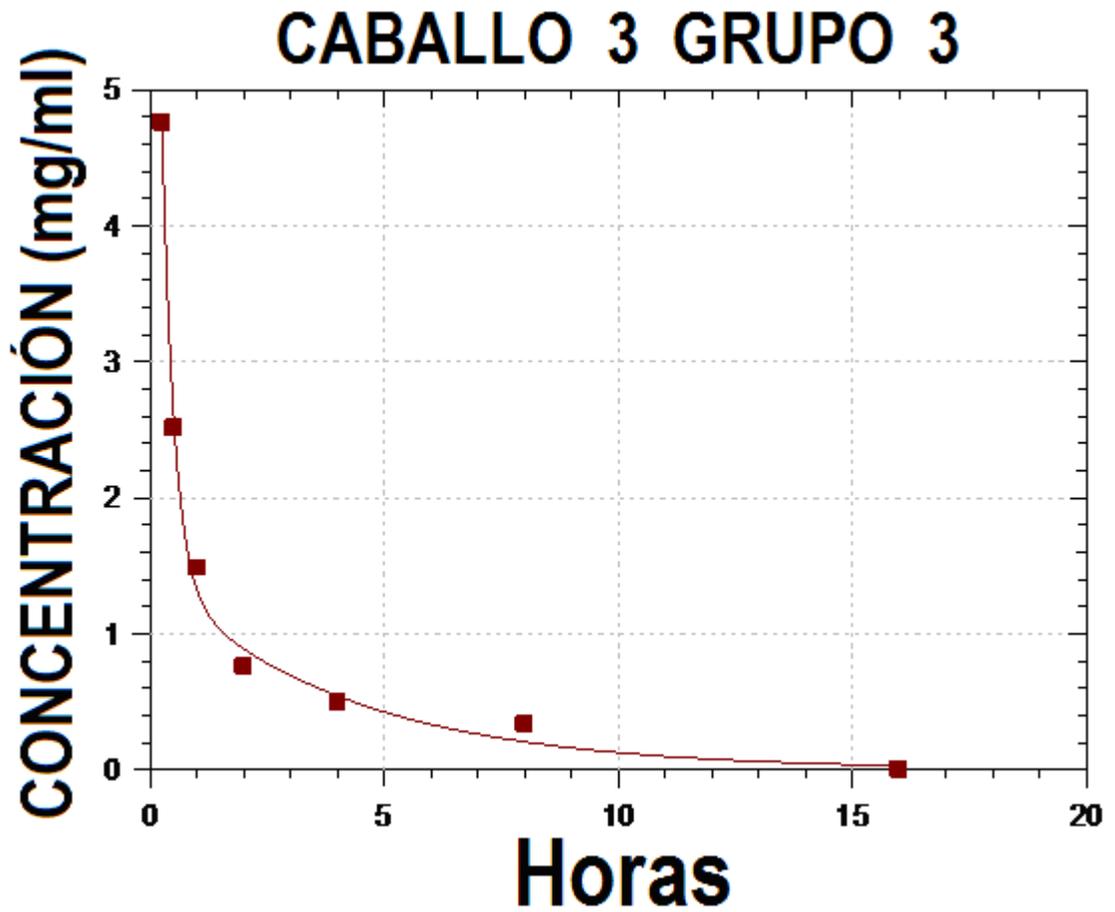


Figura 36.- Relación entre la concentración sobre tiempo del Fosfato Sódico de Dexametasona y la Dexametasona intra-articular en el líquido sinovial a dosis de 24 mg.

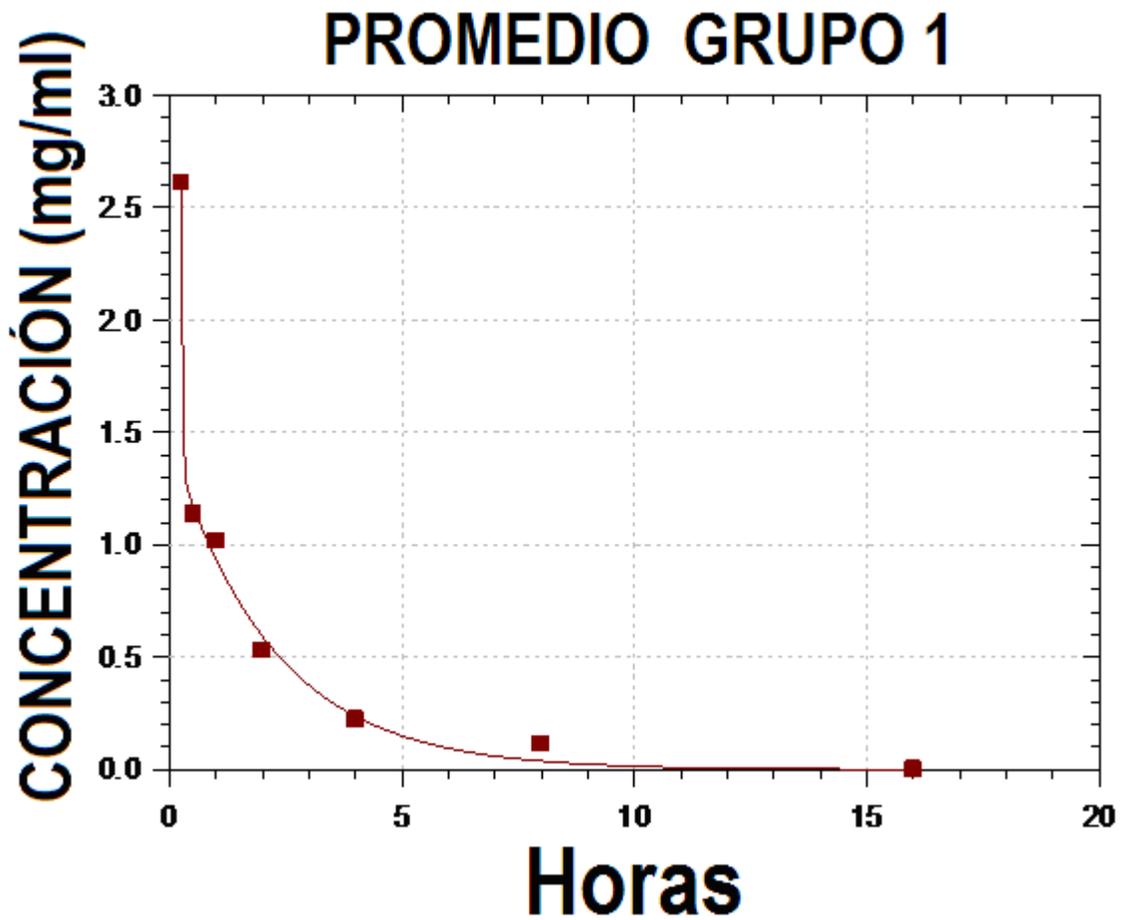


Figura 37.- Promedio de la concentración sobre tiempo del Fosfato Sódico de Dexametasona y la Dexametasona intra-articular en el líquido sinovial a dosis de 16 mg.

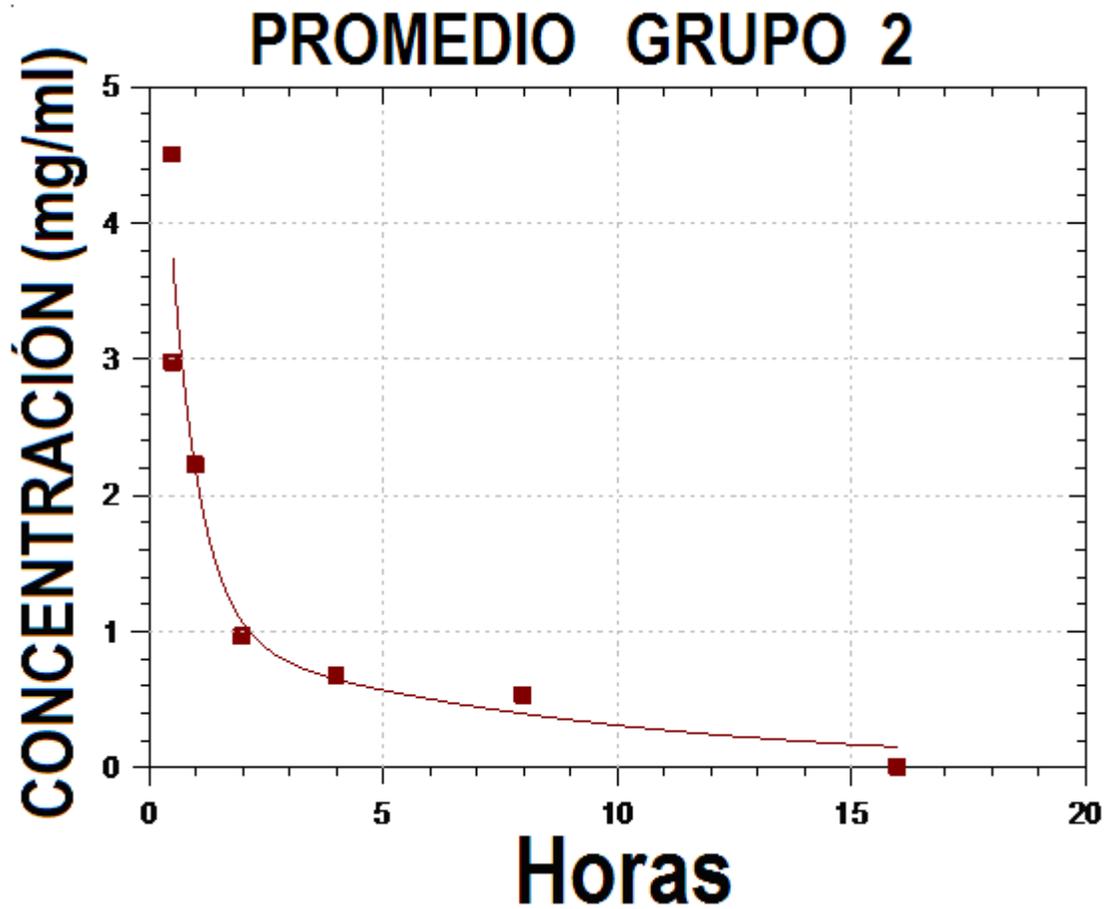


Figura 38.- Promedio de la concentración sobre tiempo del Fosfato Sódico de Dexametasona y la Dexametasona intra-articular en el líquido sinovial a dosis de 20 mg.

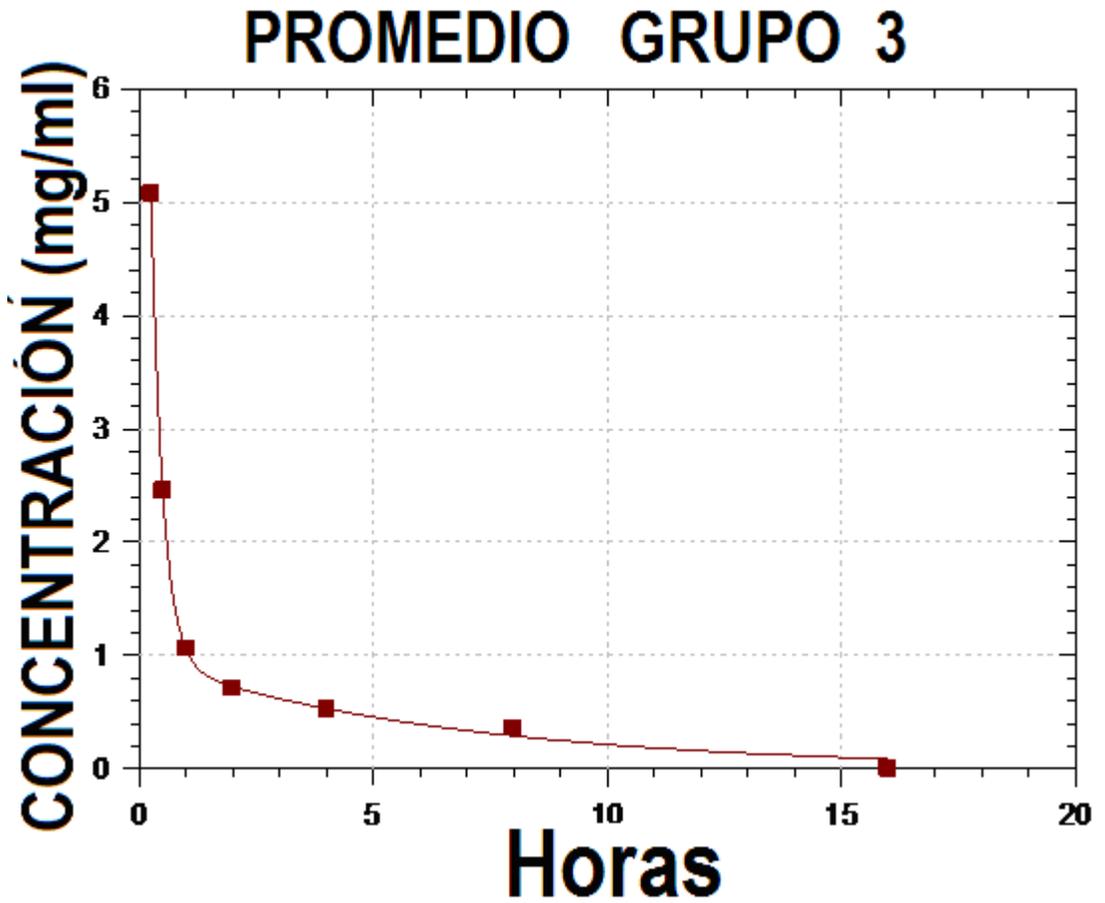


Figura 39.- Promedio de la concentración sobre tiempo del Fosfato Sódico de Dexametasona y la Dexametasona intra-articular en el líquido sinovial a dosis de 24 mg.

CUADROS

CUADRO 1

**CLASIFICACIÓN DE LAS METALOPROTEINASAS, FUENTE Y SUBSTRATO
EN EL CUAL EJERCEN SU ACCIÓN.**

PROTEINASAS	MMP	FUENTE	SUBSTRATOS DEL CARTÍLAGO DEGRADADO
Colagenazas	MMP-1 MMP-8	Macrófagos, fibroblastos, osteoblasto, condrocitos y células endoteliales	Colágena I, II, III, VII, X
Estromelicinas	MMP-3 MMP-10	Membrana sinovial y condrocitos	Colágena II, IV, IX, X, XI
Gelatinazas	MMP-2 MMP-9	Membrana sinovial y condrocitos	Colágena II, IV, IX, X, XI y elastina
Otras	MMP-7 MMP-11 MMP-12 MMP-19		Proteoglicanos, elastina, colágena II y IV.

Mc Ilwraith, Trotter. Joint Disease in the Horse. USA: W.B. Saunders 1996.

CUADRO 2

CLASIFICACIÓN DE LA CITOKINONAS, EJEMPLOS Y MECANISMO DE ACCIÓN.

TIPO	EJEMPLO	ACCIÓN
Pro-inflamatorias	IL-1, FNT α	Promueve la síntesis de MMP, oxido nítrico, PGE ₂ e inhibe a la colágena tipo II y la síntesis de proteoglicanos.
Reguladoras	IL-4, IL-6, IL-10, IL-13	Estimula la síntesis de TIMP, e inhibe la síntesis de IL-1
Promotoras del Crecimiento	IGF-1 (insulina como factor de crecimiento), bFGF (factor de crecimiento de los fibroblatos)	Promueve la síntesis de colágena II y de proteoglicanos.

Mc Ilwraith, Trotter. Joint Disease in the Horse. USA: W.B. Saunders 1996.

CUADRO 3

CARACTERISTICAS DE LOS CABALLOS .

Caballo	Sexo	Peso	Diametro Art	Cant Liq Art
1	Hembra	310	27	5.45
2	Hembra	340	28	6.91
3	Hembra	280	27	5.45

CUADRO 4

VOLUMEN EN RELACIÓN AL DIÁMETRO DE LA ARTICULACIÓN RADIO-CARPAL DE CABALLOS.

Diámetro (cm)	29 - 30.99	31 – 32.99	33 - 34.99
Volumen (ml)	8.25	11.56	14.11

Smith J.M. Rftzlaff M.H. Grant B.D. Frank F.L. The Synovial Fluid Volume of The Radiocarpal, Intercarpal And Tibiotarsal Joints of the Horse. Synovial Fluid Volume 1979; 10(3): 479-483.

CUADRO 5

ESTIMADO DEL VOLUMEN DE ACUERDO AL DIÁMETRO DE LA ARTICULACIÓN

Diámetro cm	27 cm	28 cm
Volumen	5.45 ml	6.91 ml

Datos obtenidos después de una regresión Lineal

CUADRO 6

RESPUESTA DE LOS ESTÁNDARES DE FOSFATO SÓDICO DE DEXAMETASONA EN EL CROMATOGRAMA

STD mg/ml	Altura	Altura	Altura	Altura	Altura	Prom	Coef Cor
0.25	253714.4	237859.5	255278.1	258028.1	249401.2	250856.3	0.99999
0.125	108532	126942	109309.3	131115	125597.5	120299.2	
0.06125	43560.1	62760.7	46087.6	62790.8	59250.9	54890	

STD= Estándar en miligramos sobre mililitro, Altura= Altura del Pico, Prom= Promedio de las 5 observaciones, Coef Cor= Coeficiente de Correlación.

CUADRO 7

RESPUESTA DE LOS ESTÁNDARES DE DEXAMETASONA EN EL CROMATOGRAMA

STD mg/ml	Altura	Altura	Altura	Altura	Altura	Prom	Coef Cor
0.25	353021.2	314937.3	335841.9	318812.8	325633.8	329649.4	0.99998
0.125	179193.2	156217.6	169347.8	163503.2	162317.1	166115.8	
0.06125	86033.9	73666.8	82940.7	81660.1	79497.3	80759.8	

STD= Estándar en miligramos sobre mililitro, Altura= Altura del Pico, Prom= Promedio de las 5 observaciones, Coef Cor= Coeficiente de Correlación.

CUADRO 8

RESULTADOS DEL ESTUDIO DE PRESICIÓN DEL SISTEMA PARA EL FOSFATO SÓDICO DE DEXAMTETASONA

Número de Inyecciones	Altura del Pico	Tiempo de Retención
1	323021.2	1.1
2	314937.3	1.09
3	325841.9	1.06
4	318812.8	1.05
5	325633.8	1.08
Media	321621.8	1.075839834
Desviación Estándar	4701.9	0.020736441
Desviación Relativa	1.5	1.927465473

CUADRO 9

RESULTADOS DEL ESTUDIO DE PRESICIÓN DEL SISTEMA PARA LA DEXAMETASONA

Número de Inyecciones	Altura del Pico	Tiempo de Retención
1	253714.4	3.34
2	247859.5	3.36
3	255278.1	3.38
4	258028.1	3.35
5	249401.2	3.4
Media	252828.5	3.365931192
Desviación Estándar	4190.9	0.024083189
Desviación Relativa	1.7	0.715498558

CUADRO 10

RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE RECUPERACIÓN

Número de Ensayo	Concentración	Cantidad Recuperada	Cantidad Recuperada %
1	0.25	0.075000	30%
	0.25	0.080000	32%
	0.25	0.072500	29%
2	0.125	0.040000	32%
	0.125	0.037500	30%
	0.125	0.038750	31%
3	0.06125	0.018375	30%
	0.06125	0.018988	31%
	0.06125	0.018988	31%
		Media	30.65%
		Desviación Estándar	1%
		Desviación Relativa	3.262642741

CUADRO 11

MEDIA Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DEL POTENCIAL DE HIDRÓGENO, CÉLULAS BLANCAS, CALIDAD DE LA MUCINA, PROTEÍNA TOTAL, VISCOSIDAD, APARIENCIA, SODIO, CALCIO, MAGNESIO Y POTASIO DEL LÍQUIDO SINOVIAL DE LA ARTICULACIÓN RADIO-CARPAL DE CABALLOS.

FOSFATO SÓDICO DE DEXAMETASONA 16mg/4ml

Hora	0	0.25	0.5	1	2	4	8	16
pH	7.37±0.08	7.57±0.03	7.56±0.01	7.52±0.05	7.50±0.05	7.43±0.02	7.42±0.02	7.40±0.04
Celularidad	152.67±41.4	145±31.2	136.67±33.3	110*	100*	ND	ND	110*
Mucina	1	1	1	1	1.67±0.58	0.00	1.33±0.58	1±0
Proteína	1	0.767±0.06	0.70	0.8±0.2	0.60±0.1	0.63±0.15	0.67±0.6	0.87±0.15
Viscosidad	6	6	6	5.67±0.58	5	5	5	5
Apariencia	1	1	1	1.67±0.58	1.67±0.58	2	2	1.67±0.58
Na⁺	107.57±15.1	124.18±14	122.95±6.4	103.92±10	ND	ND	ND	ND
Ca⁺	1.49±0.12	2.70±1.03	1.77±.21	1.66±.29	ND	ND	ND	ND
Mg⁺	0.68±0.05	0.76±.11	0.75±.03	0.737±0.02	ND	ND	ND	ND
K⁺	3.81±0.57	5.82±1.70	5.17±.49	6.93±0.92	ND	ND	ND	ND

ND= No determinado, *= Una sola observación por lo que no se puede obtener la desviación estándar, pH = Potencial de Hidrogeno, Celularidad = número de células por microlitro, Proteína = Proteínas Totales en gr/dl, Viscosidad en cm, Na⁺ = Sodio en mEq/L, Ca⁺ = calcio en mEq/L , Mg⁺ = magnesio mEq/L y K⁺ = potasio en mEq/L.

CUADRO 12

MEDIA Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DEL POTENCIAL DE HIDRÓGENO, CÉLULAS BLANCAS, CALIDAD DE LA MUCINA, PROTEÍNA TOTAL, VISCOSIDAD, APARIENCIA, SODIO, CALCIO, MAGNESIO Y POTASIO DEL LÍQUIDO SINOVIAL DE LA ARTICULACIÓN RADIO-CARPAL DE CABALLOS.

AGUA BIDEESTILADA 4ml

Hora	0	0.25	0.5	1	2	4	8	16
Ph	7.37±0.06	7.60±0.01	7.60±0.01	7.53±0.03	7.5	7.42±0.03	7.40±0.01	7.37±0.08
Celularidad	203.67±68.6	208.33±71.8	223.33±68.1	305*	300*	ND	ND	215±106.1
Mucina	1	1	1	1	1.33±0.58	1.33±0.58	1	1
Proteína	1	0.67±0.06	0.63±0.06	0.6±0.1	0.57±0.12	0.67±0.12	0.73±0.1	0.93±0.12
Viscosidad	6	6	6	5.33±0.58	5	4.67±0.58	5	5
Apariencia	1	1	1	1.67±0.58	2	2	2	1.33±0.58
Na⁺	103.04*	114.72±9.41	119.01*	117.23*	ND	ND	ND	ND
Ca⁺	1.66*	1.46±.29	1.56*	1.98*	ND	ND	ND	ND
Mg⁺	0.78*	0.75±.12	0.67*	0.64*	ND	ND	ND	ND
K⁺	5.17*	4.52±.13	4.43*	10.72*	ND	ND	ND	ND

ND= No determinado, *= Una sola observación por lo que no se puede obtener la desviación estándar, pH = Potencial de Hidrogeno, Celularidad = número de células por microlitro, Proteína = Proteínas Totales en gr/dl, Viscosidad en cm, Na⁺ = Sodio en mEq/L, Ca⁺ = calcio en mEq/L , Mg⁺ = magnesio mEq/L y K⁺ = potasio en mEq/L.

CUADRO 13

MEDIA Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DEL POTENCIAL DE HIDRÓGENO, CÉLULAS BLANCAS, CALIDAD DE LA MUCINA, PROTEÍNA TOTAL, VISCOSIDAD, APARIENCIA, SODIO, CALCIO, MAGNESIO Y POTASIO DEL LÍQUIDO SINOVIAL DE LA ARTICULACIÓN RADIO-CARPAL DE CABALLOS.

FOSFATO SÓDICO DE DEXAMETASONA 20mg/5ml

Hora	0	0.25	0.5	1	2	4	8	16
pH	7.44±0.05	7.58±0.07	7.58±0.07	7.50±0.04	7.54±0.01	7.44±0.05	7.40±0.02	7.39±0.04
Celularidad	151.33±28	150.67±28	142.5±25.7	123.33±5.77	125.5±6.36	ND	ND	ND
Mucina	1	1	1	1	1	1	1	1
Proteína	0.87±0.11	0.7±0.1	0.63±0.06	0.7	0.73±0.06	0.67±0.06	0.77±0.1	0.77±0.06
Viscosidad	6	5.33±0.58	6	5	5	5	5	5
Apariencia	1	1	1.33±0.58	1.33±0.58	1.67±0.58	2	2	2
Na⁺	100.91±31.124	124.93±6.11	141.23±11.2	136.72*	134.75±10.8	ND	132.79±38	ND
Ca⁺	1.15±0.07	1.42±0.158	1.44±0.44	1.38*	1.29±0.13	ND	1.23±0.2	ND
Mg⁺	0.41±0.06	0.53±0.125	0.56±0.07	0.45*	0.39±0.01	ND	0.70±0.2	ND
K⁺	2.87±3.04	4.01±1.817	4.45±1.49	7.16*	7.42±3.71	ND	18.26±17	ND

ND= No determinado, *= Una sola observación por lo que no se puede obtener la desviación estándar, pH = Potencial de Hidrogeno, Celularidad = número de células por microlitro, Proteína = Proteínas Totales en gr/dl, Viscosidad en cm, Na⁺ = Sodio en mEq/L, Ca⁺ = calcio en mEq/L , Mg⁺ = magnesio mEq/L y K⁺ = potasio en mEq/L.

CUADRO 14

MEDIA Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DEL POTENCIAL DE HIDRÓGENO, CÉLULAS BLANCAS, CALIDAD DE LA MUCINA, PROTEÍNA TOTAL, VISCOSIDAD, APARIENCIA, SODIO, CALCIO, MAGNESIO Y POTASIO DEL LÍQUIDO SINOVIAL DE LA ARTICULACIÓN RADIO-CARPAL DE CABALLOS.

AGUA BIDEESTILADA 5ml

Hora	0	0.25	0.5	1	2	4	8	16
pH	7.36±0.06	7.57±0.06	7.60±0.01	7.55±0.02	7.47±0.05	7.44±0.02	7.39±0.1	7.44±0.05
Celularidad	160±35	163.33±32.15	218.33±27.5	ND	ND	ND	ND	180.5±0.05
Mucina	1	1	1	1.33±0.058	1.33±0.58	1.33±0.58	1.33±0.58	1
Proteína	0.9±0.17	0.7±0.1	0.67±0.06	0.67±0.06	0.67±0.06	0.67±0.06	0.7±0.1	0.73±0.06
Viscosidad	6	5.33±0.58	6	5	5	5	5	5
Apariencia	1	1	1	2	2	2	2	1.33±0.58
Na⁺	113.28±27.57	132.64±32.16	131.48±14	132.94±13.6	120.42±23.7	152.01±32.73	129.73±15	ND
Ca⁺	1.23±0.68	1.67±0.48	1.40±0.35	1.57±0.06	1.42±0.04	1.66±0.04	1.61±0.2	ND
Mg⁺	0.38±0.03	0.54±0.16	0.54±0.15	0.69±0.14	0.49±0.09	0.45±0.06	0.58±0.1	ND
K⁺	7.94±7.13	6.46±3.57	10.65±2.37	12±11.1	14.24±7.51	10.83±3.71	17.04±9	ND

ND= No determinado, *= Una sola observación por lo que no se puede obtener la desviación estándar, pH = Potencial de Hidrogeno, Celularidad = número de células por microlitro, Proteína = Proteínas Totales en gr/dl, Viscosidad en cm, Na⁺ = Sodio en mEq/L, Ca⁺ = calcio en mEq/L , Mg⁺ = magnesio mEq/L y K⁺ = potasio en mEq/L.

CUADRO 15

MEDIA Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DEL POTENCIAL DE HIDRÓGENO, CÉLULAS BLANCAS, CALIDAD DE LA MUCINA, PROTEÍNA TOTAL, VISCOSIDAD, APARIENCIA, SODIO, CALCIO, MAGNESIO Y POTASIO DEL LÍQUIDO SINOVIAL DE LA ARTICULACIÓN RADIO-CARPAL DE CABALLOS.

FOSFATO SÓDICO DE DEXAMETASONA 24mg/6ml

Hora	0	0.25	0.5	1	2	4	8	16
pH	7.39±0.07	7.55±0.01	7.56±0.02	7.52±0.03	7.52±0.05	7.4	7.44±0.1	7.42±0.08
Celularidad	196±104.37	195.67±103	185±100	120±28.3	ND	ND	ND	192.5±67.18
Mucina	1	1	1	1	1	1.33±0.58	1	1
Proteína	1.07±0.72	0.7±0.17	0.73±0.06	0.73±0.06	0.73±0.15	0.73±0.06	0.77±0.1	0.77±0.1
Viscosidad	6	5.67±0.58	5.33±0.58	5.33±0.58	5	4.33±0.58	5	5
Apariencia	1	1	1	1.67±0.58	2	2	2	1.33±0.58
Na⁺	120.29±18.17	134.22±12.92	145.65±22.2	125.17±24.5	127.61±13.4	121.72*	ND	ND
Ca⁺	2.37±0.55	3.19±0.9	3.24	2.28±0.49	2.08±0.1	3.37*	ND	ND
Mg⁺	0.44±0.07	0.63±0.12	0.63±0.03	0.52±0.07	0.46±0.03	0.61*	ND	ND
K⁺	2.25±0.98	3.25±0.3	4.3±0.68	4.26±1.15	4.82±2.14	11.65*	ND	ND

ND= No determinado, *= Una sola observación por lo que no se puede obtener la desviación estándar, pH = Potencial de Hidrogeno, Celularidad = número de células por microlitro, Proteína = Proteínas Totales en gr/dl, Viscosidad en cm, Na⁺ = Sodio en mEq/L, Ca⁺ = calcio en mEq/L , Mg⁺ = magnesio mEq/L y K⁺ = potasio en mEq/L.

CUADRO 16

MEDIA Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DEL POTENCIAL DE HIDRÓGENO, CÉLULAS BLANCAS, CALIDAD DE LA MUCINA, PROTEÍNA TOTAL, VISCOSIDAD, APARIENCIA, SODIO, CALCIO, MAGNESIO Y POTASIO DEL LÍQUIDO SINOVIAL DE LA ARTICULACIÓN RADIO-CARPAL DE CABALLOS.

AGUA BIDEESTILADA 6ml

Hora	0	0.25	0.5	1	2	4	8	16
Ph	7.4±0.03	7.59±0.01	7.6±0.01	7.50±0.01	7.48±0.03	7.42±0.02	7.41	7.28±0.03
Celularidad	213.33±65.06	227.67±66.38	273.33±64.3	320	400*	325*	ND	170*
Mucina	1	1	1	1	1	1.33±0.58	1.33±0.6	1
Proteína	0.93±0.49	0.7±0.17	0.7±0.17	0.77±0.12	0.73±0.15	0.73±0.06	0.8	0.83±0.06
Viscosidad	6	5.33±0.58	5.33±0.58	5.33±0.58	5	5	5	5
Apariencia	1	1	1	1.67±0.58	1.67±0.58	2	2	1.67±0.58
Na⁺	128.98±7.15	127.67±14.51	156.02*	146.9±20.5	139.04±24	129.93*	ND	ND
Ca⁺	2.74±1.4	1.51±0.67	2.69*	2.76±1.06	3.98±0.29	2.83*	ND	ND
Mg⁺	0.52±0.2	0.47±0.12	0.52*	0.56±0.15	0.64±0.07	0.56*	ND	ND
K⁺	1.42±0.31	2.56±0.417	3.49*	3.33±0.74	2.87±1.3	3.05*	ND	ND

ND= No determinado, *= Una sola observación por lo que no se puede obtener la desviación estándar, pH = Potencial de Hidrogeno, Celularidad = número de células por microlitro, Proteína = Proteínas Totales en gr/dl, Viscosidad en cm, Na⁺ = Sodio en mEq/L, Ca⁺ = calcio en mEq/L , Mg⁺ = magnesio mEq/L y K⁺ = potasio en mEq/L.

CUADRO 17

MEDIA Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DEL POTENCIAL DE HIDRÓGENO EN EL LÍQUIDO ARTICULAR DE CABALLOS INYECTADOS CON FOSFATO SÓDICO DE DEAMETASONA Y AGUA BIDEESTILADA

Dosis	Hora 0	Hora 0.25	Hora 0.5	Hora 1	Hora 2	Hora 4	Hora 8	Hora 16
Agua 4ml	7.37±0.06 ^{ab}	7.60±0.01 ^a	7.60±0.01 ^a	7.53±0.03 ^a	7.5 ^{ab}	7.42±0.03 ^a	7.40±0.01 ^a	7.37±0.08 ^a
Agua 5ml	7.36±0.06 ^a	7.57±0.06 ^a	7.60±0.01 ^a	7.55±0.02 ^a	7.47±0.05 ^a	7.44±0.02 ^a	7.39±0.1 ^a	7.44±0.05 ^a
Agua 6ml	7.4±0.03 ^{ab}	7.59±0.01 ^a	7.6±0.01 ^a	7.50±0.01 ^a	7.48±0.03 ^{ab}	7.42±0.02 ^a	7.41 ^a	7.28±0.03 ^a
Dexa 16mg/4ml	7.37±0.08 ^{ab}	7.57±0.03 ^a	7.56±0.01 ^a	7.52±0.05 ^a	7.50±0.05 ^{ab}	7.43±0.02 ^a	7.42±0.02 ^a	7.40±0.04 ^a
Dexa 20mg/5ml	7.44±0.05 ^b	7.58±0.07 ^a	7.58±0.07 ^a	7.50±0.04 ^a	7.54±0.01 ^b	7.44±0.05 ^a	7.40±0.02 ^a	7.39±0.04 ^a
Dexa 24mg/6ml	7.39±0.07 ^{ab}	7.55±0.01 ^a	7.56±0.02 ^a	7.52±0.03 ^a	7.52±0.05 ^{ab}	7.4 ^a	7.44±0.1 ^a	7.42±0.08 ^a

^{ab} Los valores dentro de una hora que comparten la misma literal no presentan diferencias estadísticamente significativas (p<0.05)

CUADRO 18

**MEDIA Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA CELULARIDAD (cel/ μ l)
EN EL LÍQUIDO ARTICULAR DE CABALLOS INYECTADOS CON FOSFATO SÓDICO DE DEAMETASONA Y
AGUA BIDEESTILADA**

Dosis	Hora 0	Hora 0.25	Hora 0.5	Hora 1	Hora 2	Hora 4	Hora 8	Hora 16
Agua 4ml	203.67 \pm 68.6 ^a	208.33 \pm 71.8 ^a	223.33 \pm 68.1 ^a	305* ^a	300* ^a	ND	ND	215 \pm 106.1 ^a
Agua 5ml	160 \pm 35 ^a	163.33 \pm 32.15 ^a	218.33 \pm 27.5 ^a	ND	ND	ND	ND	180.5 \pm 0.05 ^a
Agua 6ml	213.33 \pm 65.06 ^a	227.67 \pm 66.38 ^a	273.33 \pm 64.3 ^a	320 ^{ab}	400* ^{ab}	325*	ND	170* ^a
Dexa 16mg/4ml	152.67 \pm 41.4 ^a	145 \pm 31.2 ^a	136.67 \pm 33.3 ^a	110* ^b	100* ^b	ND	ND	110* ^a
Dexa 20mg/5ml	151.33 \pm 28 ^a	150.67 \pm 28 ^a	142.5 \pm 25.7 ^a	123.33 \pm 5.77 ^{ab}	125.5 \pm 6.36 ^{ab}	ND	ND	ND
Dexa 24mg/6ml	196 \pm 104.37 ^a	195.67 \pm 103 ^a	185 \pm 100 ^a	120 \pm 28.3 ^a	ND	ND	ND	192.5 \pm 67.18 ^a

ND= No determinado, *= Una sola observación por lo que no se puede obtener la desviación estándar. ^{ab}Los valores dentro de una hora que comparten la misma literal no presentan diferencias estadísticamente significativas (p<0.05)

CUADRO 19

**MEDIA Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA PROTEINA TOTAL (gr/dl)
EN EL LÍQUIDO ARTICULAR DE CABALLOS INYECTADOS CON FOSFATO SÓDICO DE DEAMETASONA Y
AGUA BIDEESTILADA**

Dosis	Hora 0	Hora 0.25	Hora 0.5	Hora 1	Hora 2	Hora 4	Hora 8	Hora 16
Agua 4ml	1 ^a	0.67±0.06 ^a	0.63±0.06 ^a	0.6±0.1 ^a	0.57±0.12 ^a	0.67±0.12 ^a	0.73±0.1 ^a	0.93±0.12 ^a
Agua 5ml	0.9±0.17 ^a	0.7±0.1 ^a	0.67±0.06 ^a	0.67±0.06 ^a	0.67±0.06 ^a	0.67±0.06 ^a	0.7±0.1 ^a	0.73±0.06 ^a
Agua 6ml	0.93±0.49 ^a	0.7±0.17 ^a	0.7±0.17 ^a	0.77±0.12 ^a	0.73±0.15 ^a	0.73±0.06 ^a	0.8 ^a	0.83±0.06 ^a
Dexa 16mg/4ml	1 ^a	0.767±0.06 ^a	0.70 ^a	0.8±0.2 ^a	0.60±0.1 ^a	0.63±0.15 ^a	0.67±0.6 ^a	0.87±0.15 ^a
Dexa 20mg/5ml	0.87±0.11 ^a	0.7±0.1 ^a	0.63±0.06 ^a	0.7 ^a	0.73±0.06 ^a	0.67±0.06 ^a	0.77±0.1 ^a	0.77±0.06 ^a
Dexa 24mg/6ml	1.07±0.72 ^a	0.7±0.17 ^a	0.73±0.06 ^a	0.73±0.06 ^a	0.73±0.15 ^a	0.73±0.06 ^a	0.77±0.1 ^a	0.77±0.1 ^a

^a Los valores dentro de una hora que comparten la misma literal no presentan diferencias estadísticamente significativas (p<0.05)

CUADRO 20

MEDIA Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA VISCOSIDAD (cm)

**EN EL LÍQUIDO ARTICULAR DE CABALLOS INYECTADOS CON FOSFATO SÓDICO DE DEAMETASONA Y
AGUA BIDEESTILADA**

Dosis	Hora 0	Hora 0.25	Hora 0.5	Hora 1	Hora 2	Hora 4	Hora 8	Hora 16
Agua 4ml	6 ^a	6 ^{ab}	6 ^{abc}	5.33±0.58 ^{ab}	5 ^a	4.67±0.58 ^{ab}	5 ^a	5 ^a
Agua 5ml	6 ^a	5.33±0.58 ^{ab}	6 ^{ac}	5 ^{ab}	5 ^a	5 ^{ab}	5 ^a	5 ^a
Agua 6ml	6 ^a	5.33±0.58 ^{ab}	5.33±0.58 ^{bc}	5.33±0.58 ^{ab}	5 ^a	5 ^{ab}	5 ^a	5 ^a
Dexa 16mg/4ml	6 ^a	6 ^a	6 ^{ab}	5.67±0.58 ^a	5 ^a	5 ^a	5 ^a	5 ^a
Dexa 20mg/5ml	6 ^a	5.33±0.58 ^{ab}	6 ^c	5 ^b	5 ^a	5 ^a	5 ^a	5 ^a
Dexa 24mg/6ml	6 ^a	5.67±0.58 ^b	5.33±0.58 ^{ab}	5.33±0.58 ^{ab}	5 ^a	4.33±0.58 ^b	5 ^a	5 ^a

^{abc} Los valores dentro de una hora que comparten la misma literal no presentan diferencias estadísticamente significativas

(p<0.05)

CUADRO 21

**MEDIA Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA CALIDAD DE LA MUCINA
EN EL LÍQUIDO ARTICULAR DE CABALLOS INYECTADOS CON FOSFATO SÓDICO DE DEAMETASONA Y
AGUA BIDEUTILADA**

Dosis	Hora 0	Hora 0.25	Hora 0.5	Hora 1	Hora 2	Hora 4	Hora 8	Hora 16
Agua 4ml	1 ^a	1 ^a	1 ^a	1 ^a	1.33±0.58 ^{ab}	1.33±0.58 ^{ab}	1 ^a	1 ^a
Agua 5ml	1 ^a	1 ^a	1 ^a	1.33±0.58 ^a	1.33±0.58 ^{ab}	1.33±0.58 ^{ab}	1.33±0.58 ^a	1 ^a
Agua 6ml	1 ^a	1 ^a	1 ^a	1 ^a	1 ^{ab}	1.33±0.58 ^{ab}	1.33±0.6 ^a	1 ^a
Dexa 16mg/4ml	1 ^a	1 ^a	1 ^a	1 ^a	1.67±0.58 ^a	1 ^{ab}	1.33±0.58 ^a	1 ^a
Dexa 20mg/5ml	1 ^a	1 ^a	1 ^a	1 ^a	1 ^b	1 ^a	1 ^a	1 ^a
Dexa 24mg/6ml	1 ^a	1 ^a	1 ^a	1 ^a	1 ^b	1.33±0.58 ^b	1 ^a	1 ^a

^{ab} Los valores dentro de una hora que comparten la misma literal no presentan diferencias estadísticamente significativas (p<0.05)

CUADRO 22
MEDIA Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA APARIENCIA
EN EL LÍQUIDO ARTICULAR DE CABALLOS INYECTADOS CON FOSFATO SÓDICO DE DEAMETASONA Y
AGUA BIDESTILADA

Dosis	Hora 0	Hora 0.25	Hora 0.5	Hora 1	Hora 2	Hora 4	Hora 8	Hora 16
Agua 4ml	1 ^a	1 ^a	1 ^a	1.67±0.58 ^a	2 ^a	2 ^a	2 ^a	1.33±0.58 ^{ab}
Agua 5ml	1 ^a	1 ^a	1 ^a	2 ^a	2 ^a	2 ^a	2 ^a	1.33±0.58 ^a
Agua 6ml	1 ^a	1 ^a	1 ^a	1.67±0.58 ^a	1.67±0.58 ^a	2 ^a	2 ^a	1.67±0.58 ^{ab}
Dexa 16mg/4ml	1 ^a	1 ^a	1 ^a	1.67±0.58 ^a	1.67±0.58 ^a	2 ^a	2 ^a	1.67±0.58 ^{ab}
Dexa 20mg/5ml	1 ^a	1 ^a	1.33±0.58 ^a	1.33±0.58 ^a	1.67±0.58 ^a	2 ^a	2 ^a	2 ^b
Dexa 24mg/6ml	1 ^a	1 ^a	1 ^a	1.67±0.58 ^a	2 ^a	2 ^a	2 ^a	1.33±0.58 ^a

^{ab} Los valores dentro de una hora que comparten la misma literal no presentan diferencias estadísticamente significativas (p<0.05)

CUADRO 23
MEDIA Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DEL SODIO (mEq/L)
EN EL LÍQUIDO ARTICULAR DE CABALLOS INYECTADOS CON FOSFATO SÓDICO DE DEAMETASONA Y
AGUA BIDEUTILADA

Dosis	Hora 0	Hora 0.25	Hora 0.5	Hora 1	Hora 2	Hora 4	Hora 8	Hora 16
Agua 4ml	103.04* ^a	114.72±9.41 ^a	119.01* ^a	117.23* ^a	ND	ND	ND	ND
Agua 5ml	113.28±27.57 ^a	132.64±32.16 ^a	131.48±14 ^a	132.94±13.6 ^a	120.42±23.7 ^a	152.01±32.73 ^a	129.73±15 ^a	ND
Agua 6ml	128.98±7.15 ^a	127.67±14.51 ^a	156.02* ^a	146.9±20.5 ^a	139.04±24 ^a	129.93* ^a	ND	ND
Dexa 16mg/4ml	107.57±15.1 ^a	124.18±14 ^a	122.95±6.4 ^a	103.92±10 ^a	ND	ND	ND	ND
Dexa 20mg/5ml	100.91±31.124 ^a	124.93±6.11 ^a	141.23±11.2 ^a	136.72* ^a	134.75±10.8 ^a	ND	132.79±38 ^a	ND
Dexa 24mg/6ml	120.29±18.17 ^a	134.22±12.92 ^a	145.65±22.2 ^a	125.17±24.5 ^a	127.61±13.4 ^a	121.72* ^a	ND	ND

ND= No determinado, *= Una sola observación por lo que no se puede obtener la desviación estándar. ^a Los valores dentro de una hora que comparten la misma literal no presentan diferencias estadísticamente significativas (p<0.05)

CUADRO 24
MEDIA Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DEL MAGNESIO (mEq/L)
EN EL LÍQUIDO ARTICULAR DE CABALLOS INYECTADOS CON FOSFATO SÓDICO DE DEAMETASONA Y
AGUA BIDESTILADA

Dosis	Hora 0	Hora 0.25	Hora 0.5	Hora 1	Hora 2	Hora 4	Hora 8	Hora 16
Agua 4ml	0.78* ^{ac}	0.75±.12 ^a	0.67* ^{ab}	0.64* ^{ab}	ND	ND	ND	ND
Agua 5ml	0.38±0.03 ^{bc}	0.54±0.16 ^{bc}	0.54±0.15 ^{ab}	0.69±0.14 ^{ab}	0.49±0.09 ^a	0.45±0.06 ^a	0.58±0.1 ^a	ND
Agua 6ml	0.52±0.2 ^{abc}	0.47±0.12 ^{bc}	0.52* ^{ab}	0.56±0.15 ^{ab}	0.64±0.07 ^a	0.56* ^a	ND	ND
Dexa 16mg/4ml	0.68±0.05 ^{ab}	0.76±.11 ^{abc}	0.75±.03 ^a	0.737±0.02 ^a	ND	ND	ND	ND
Dexa 20mg/5ml	0.41±0.06 ^c	0.53±0.125 ^{abc}	0.56±0.07 ^b	0.45* ^b	0.39±0.01 ^a	ND	0.70±0.2 ^a	ND
Dexa 24mg/6ml	0.44±0.07 ^c	0.63±0.12 ^{abc}	0.63±0.03 ^{ab}	0.52±0.07 ^b	0.46±0.03 ^a	0.61* ^a	ND	ND

ND= No determinado, *= Una sola observación por lo que no se puede obtener la desviación estándar. ^{abc} Los valores dentro de una hora que comparten la misma literal no presentan diferencias estadísticamente significativas (p<0.05)

CUADRO 25
MEDIA Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DEL CALCIO (mEq/L)
EN EL LÍQUIDO ARTICULAR DE CABALLOS INYECTADOS CON FOSFATO SÓDICO DE DEAMETASONA Y
AGUA BIDESTILADA

Dosis	Hora 0	Hora 0.25	Hora 0.5	Hora 1	Hora 2	Hora 4	Hora 8	Hora 16
Agua 4ml	1.66* ^{abc}	1.46±.29 ^a	1.56* ^{ab}	1.98* ^{ab}	ND	ND	ND	ND
Agua 5ml	1.23±0.68 ^{ac}	1.67±0.48 ^a	1.40±0.35 ^a	1.57±0.06 ^a	1.42±0.04 ^a	1.66±0.04 ^a	1.61±0.2 ^a	ND
Agua 6ml	2.74±1.4 ^b	1.51±0.67 ^a	2.69* ^b	2.76±1.06 ^b	3.98±0.29 ^a	2.83* ^a	ND	ND
Dexa 16mg/4ml	1.49±0.12 ^{ab}	2.70±1.03 ^a	1.77±.21 ^{ab}	1.66±.29 ^{ab}	ND	ND	ND	ND
Dexa 20mg/5ml	1.15±0.07 ^{ab}	1.42±0.158 ^a	1.44±0.44 ^{ab}	1.38* ^{ab}	1.29±0.13 ^a	ND	1.23±0.2 ^a	ND
Dexa 24mg/6ml	2.37±0.55 ^c	3.19±0.9 ^a	3.24 ^{ab}	2.28±0.49 ^{ab}	2.08±0.1 ^a	3.37* ^a	ND	ND

ND= No determinado, *= Una sola observación por lo que no se puede obtener la desviación estándar. ^{abc} Los valores dentro de una hora que comparten la misma literal no presentan diferencias estadísticamente significativas (p<0.05)

CUADRO 26

MEDIA Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DEL POTASIO (mEq/L)

**EN EL LÍQUIDO ARTICULAR DE CABALLOS INYECTADOS CON FOSFATO SÓDICO DE DEAMETASONA Y
AGUA BIDEUTILADA**

Dosis	Hora 0	Hora 0.25	Hora 0.5	Hora 1	Hora 2	Hora 4	Hora 8	Hora 16
Agua 4ml	5.17* ^a	4.52±.13 ^a	4.43* ^a	10.72* ^{ab}	ND	ND	ND	ND
Agua 5ml	7.94±7.13 ^a	6.46±3.57 ^a	10.65±2.37 ^a	12±11.1 ^a	14.24±7.51 ^a	10.83±3.71 ^a	17.04±9 ^a	ND
Agua 6ml	1.42±0.31 ^a	2.56±0.417 ^a	3.49* ^a	3.33±0.74 ^b	2.87±1.3 ^b	3.05* ^a	ND	ND
Dexa 16mg/4ml	3.81±0.57 ^a	5.82±1.70 ^a	5.17±.49 ^a	6.93±0.92 ^{ab}	ND	ND	ND	ND
Dexa 20mg/5ml	2.87±3.04 ^a	4.01±1.817 ^a	4.45±1.49 ^a	7.16* ^b	7.42±3.71 ^{ab}	ND	18.26±17 ^a	ND
Dexa 24mg/6ml	2.25±0.98 ^a	3.25±0.3 ^a	4.3±0.68 ^a	4.26±1.15 ^a	4.82±2.14 ^{ab}	11.65* ^a	ND	ND

ND= No determinado, *= Una sola observación por lo que no se puede obtener la desviación estándar. ^{ab} Los valores dentro de una hora que comparten la misma literal no presentan diferencias estadísticamente significativas (p<0.05)

CUADRO 27

**ALTURAS DE LA SEÑAL DE LAS MUESTRAS DE LÍQUIDO ARTICULAR DEL
CABALLO 1 CON 16 MG DE FOSFATO SÓDICO DE DEXAMETASONA.**

Tiempo/hr	Altura de la Señal	Concentración Fos Dex	Altura de la Señal	Concentración Dex	Concentración Final mg/ml
0	NSD	NSD	NSD	NSD	NSD
0.25	239270.13	2.1738	80828.95	0.6545	2.83
0.5	99873.24	0.9215	42773.16	0.3544	1.28
1	69240.58	0.6463	49787.51	0.4097	1.06
2	26626.13	0.2634	37149.27	0.3100	0.57
4	8153.83	0.0975	10566.74	0.1004	0.20
8	846.47	0.0318	2985.13	0.0406	0.07
16	NSD	NSD	NSD	NSD	NSD

Tiempo/hr = Es el tiempo de colecta en horas. Altura de la Señal = Es la cantidad detectada del fármaco en la muestra por el CLAR, Concentración Fos Dex = Es la concentración del Fosfato Sódico de Dexametasona, Concentración Dex = Es la concentración de las Dexametasona, Concentración Final mg/ml = Es la suma de la concentración del Fosfato Sódico de Dexametasona y de la concentración de la dexametasona, dándonos la concentración final en miligramos de líquido articular, NSD = No se detecto el fármaco.

CUADRO 28

ALTURAS DE LA SEÑAL DE LAS MUESTRAS DE LÍQUIDO ARTICULAR DEL CABALLO 2 CON 16 MG DE FOSFATO SÓDICO DE DEXAMETASONA.

Tiempo/hr	Altura de la Señal	Concentración Fos Dex	Altura de la Señal	Concentración Dex	Concentración Final mg/ml
0	NSD	NSD	NSD	NSD	NSD
0.25	174171	2.0146	103473.45	1.0562	3.07
0.5	112103	0.3702	95372.2	0.8576	1.23
1	29641.37	0.3683	83801.54	0.8595	1.09
2	15886.38	0.2117	25108.4	0.2727	0.48
4	8891.97	0.1320	11199.67	0.1336	0.27
8	7690.22	0.1183	2851.94	0.0501	0.17
16	NSD	NSD	NSD	NSD	NSD

Tiempo/hr = Es el tiempo de colecta en horas. Altura de la Señal = Es la cantidad detectada del fármaco en la muestra por el CLAR, Concentración Fos Dex = Es la concentración del Fosfato Sódico de Dexametasona, Concentración Dex = Es la concentración de las Dexametasona, Concentración Final mg/ml = Es la suma de la concentración del Fosfato Sódico de Dexametasona y de la concentración de la dexametasona, dándonos la concentración final en miligramos de líquido articular, NSD = No se detecto el fármaco.

CUADRO 29

ALTURAS DE LA SEÑAL DE LAS MUESTRAS DE LÍQUIDO ARTICULAR DEL CABALLO 3 CON 16 MG DE FOSFATO SÓDICO DE DEXAMETASONA.

Tiempo/hr	Altura de la Señal	Concentración Fos Dex	Altura de la Señal	Concentración Dex	Concentración Final mg/ml
0	NSD	NSD	NSD	NSD	NSD
0.25	109072.58	1.2731	80972.24	0.6556	1.93
0.5	41082.74	0.3933	62913.83	0.5132	0.91
1	31654.2	0.3086	93004.52	0.7505	0.90
2	18542.1	0.2035	51631.32	0.3254	0.53
4	9428.58	0.1089	10034.375	0.0962	0.21
8	5167.29	0.0706	132056	1.0584	0.10
16	NSD	NSD	NSD	NSD	NSD

Tiempo/hr = Es el tiempo de colecta en horas. Altura de la Señal = Es la cantidad detectada del fármaco en la muestra por el CLAR, Concentración Fos Dex = Es la concentración del Fosfato Sódico de Dexametasona, Concentración Dex = Es la concentración de las Dexametasona, Concentración Final mg/ml = Es la suma de la concentración del Fosfato Sódico de Dexametasona y de la concentración de la dexametasona, dándonos la concentración final en miligramos de líquido articular, NSD = No se detecto el fármaco.

CUADRO 30

ALTURAS DE LA SEÑAL DE LAS MUESTRAS DE LÍQUIDO ARTICULAR DEL CABALLO 1 CON 20 MG DE FOSFATO SÓDICO DE DEXAMETASONA.

Tiempo/hr	Altura de la Señal	Concentración Fos Dex	Altura de la Señal	Concentración Dex	Concentración Final mg/ml
0	NSD	NSD	NSD	NSD	NSD
0.25	435020.18	3.7088	66069.44	0.4288	4.14
0.5	122358.32	1.2734	101018.82	0.6524	1.93
1	76305.51	0.9147	83319.18	0.5392	1.45
2	32845.02	0.5762	45901.14	0.2997	0.88
4	20232.05	0.4732	24865.45	0.1519	0.63
8	13628.07	0.4265	5885.51	0.0437	0.47
16	NSD	NSD	NSD	NSD	NSD

Tiempo/hr = Es el tiempo de colecta en horas. Altura de la Señal = Es la cantidad detectada del fármaco en la muestra por el CLAR, Concentración Fos Dex = Es la concentración del Fosfato Sódico de Dexamatasona, Concentración Dex = Es la concentración de las Dexametasona, Concentración Final mg/ml = Es la suma de la concentración del Fosfato Sódico de Dexametasona y de la concentración de la dexametasona, dándonos la concentración final en miligramos de líquido articular, NSD = No se detecto el fármaco.

CUADRO 31

**ALTURAS DE LA SEÑAL DE LAS MUESTRAS DE LÍQUIDO ARTICULAR DEL
CABALLO 2 CON 20 MG DE FOSFATO SÓDICO DE DEXAMETASONA.**

Tiempo/hr	Altura de la Señal	Concentración Fos Dex	Altura de la Señal	Concentración Dex	Concentración Final mg/ml
0	NSD	NSD	NSD	NSD	NSD
0.25	405989.45	4.4156	63631.57	0.5239	4.94
0.5	261475.96	2.9885	122121.76	0.9984	3.99
1	72714.24	1.1243	210603.5	1.7162	2.84
2	65474.76	0.8545	9234.54	0.1180	0.97
4	35456.6	0.6312	13453.1	0.1200	0.75
8	15487.94	0.5591	16228.5	0.1393	0.70
16	NSD	NSD	NSD	NSD	NSD

Tiempo/hr = Es el tiempo de colecta en horas. Altura de la Señal = Es la cantidad detectada del fármaco en la muestra por el CLAR, Concentración Fos Dex = Es la concentración del Fosfato Sódico de Dexametasona, Concentración Dex = Es la concentración de las Dexametasona, Concentración Final mg/ml = Es la suma de la concentración del Fosfato Sódico de Dexametasona y de la concentración de la dexametasona, dándonos la concentración final en miligramos de líquido articular, NSD = No se detecto el fármaco.

CUADRO 32

ALTURAS DE LA SEÑAL DE LAS MUESTRAS DE LÍQUIDO ARTICULAR DEL CABALLO 3 CON 20 MG DE FOSFATO SÓDICO DE DEXAMETASONA.

Tiempo/hr	Altura de la Señal	Concentración Fos Dex	Altura de la Señal	Concentración Dex	Concentración Final mg/ml
0	NSD	NSD	NSD	NSD	NSD
0.25	455385.72	3.8674	85016.7	0.5500	4.42
0.5	271847.45	2.4378	87936.88	0.5687	3.01
1	49460.85	0.7056	259191.98	1.6645	2.37
2	16525.45	0.4491	89301.39	0.5774	1.03
4	13532.32	0.4201	48102.34	0.2243	0.64
8	10403.89	0.4014	67868.6	0.4403	0.42
16	NSD	NSD	NSD	NSD	NSD

Tiempo/hr = Es el tiempo de colecta en horas. Altura de la Señal = Es la cantidad detectada del fármaco en la muestra por el CLAR, Concentración Fos Dex = Es la concentración del Fosfato Sódico de Dexametasona, Concentración Dex = Es la concentración de las Dexametasona, Concentración Final mg/ml = Es la suma de la concentración del Fosfato Sódico de Dexametasona y de la concentración de la dexametasona, dándonos la concentración final en miligramos de líquido articular, NSD = No se detecto el fármaco.

CUADRO 33

ALTURAS DE LA SEÑAL DE LAS MUESTRAS DE LÍQUIDO ARTICULAR DEL CABALLO 1 CON 24 MG DE FOSFATO SÓDICO DE DEXAMETASONA.

Tiempo/hr	Altura de la Señal	Concentración Fos Dex	Altura de la Señal	Concentración Dex	Concentración Final mg/ml
0	NSD	NSD	NSD	NSD	NSD
0.25	549465.86	4.6098	97756.46	0.6616	5.29
0.5	122620.07	1.2517	128588.76	0.8696	2.12
1	50720.52	0.6861	32154.23	0.2191	0.91
2	32375.08	0.5417	53022.67	0.3599	0.82
4	6411.17	0.3375	45849.01	0.3115	0.65
8	4398.92	0.3216	10731.31	0.0746	0.40
16	NSD	NSD	NSD	NSD	NSD

Tiempo/hr = Es el tiempo de colecta en horas. Altura de la Señal = Es la cantidad detectada del fármaco en la muestra por el CLAR, Concentración Fos Dex = Es la concentración del Fosfato Sódico de Dexametasona, Concentración Dex = Es la concentración de las Dexametasona, Concentración Final mg/ml = Es la suma de la concentración del Fosfato Sódico de Dexametasona y de la concentración de la dexametasona, dándonos la concentración final en miligramos de líquido articular, NSD = No se detecto el fármaco.

CUADRO 34

ALTURAS DE LA SEÑAL DE LAS MUESTRAS DE LÍQUIDO ARTICULAR DEL CABALLO 2 CON 24 MG DE FOSFATO SÓDICO DE DEXAMETASONA.

Tiempo/hr	Altura de la Señal	Concentración Fos Dex	Altura de la Señal	Concentración Dex	Concentración Final mg/ml
0	NSD	NSD	NSD	NSD	NSD
0.25	541143.83	4.5444	94810.97	0.6418	5.19
0.5	205373.64	1.9028	121216	0.8199	2.72
1	32665.88	0.5440	35405.11	0.2410	0.79
2	17520.47	0.4249	17068.52	0.1173	0.54
4	9862.62	0.3646	9440.49	0.0659	0.43
8	4133.39	0.3195	1689.98	0.0136	0.33
16	NSD	NSD	NSD	NSD	NSD

Tiempo/hr = Es el tiempo de colecta en horas. Altura de la Señal = Es la cantidad detectada del fármaco en la muestra por el CLAR, Concentración Fos Dex = Es la concentración del Fosfato Sódico de Dexametasona, Concentración Dex = Es la concentración de las Dexametasona, Concentración Final mg/ml = Es la suma de la concentración del Fosfato Sódico de Dexametasona y de la concentración de la dexametasona, dándonos la concentración final en miligramos de líquido articular, NSD = No se detecto el fármaco.

CUADRO 35

**ALTURAS DE LA SEÑAL DE LAS MUESTRAS DE LÍQUIDO ARTICULAR DEL
CABALLO 3 CON 24 MG DE FOSFATO SÓDICO DE DEXAMETASONA.**

Tiempo/hr	Altura de la Señal	Concentración Fos Dex	Altura de la Señal	Concentración Dex	Concentración Final mg/ml
0	NSD	NSD	NSD	NSD	NSD
0.25	512157.94	4.3163	65317.38	0.4428	4.76
0.5	222127.73	2.0346	70794.08	0.4797	2.51
1	119963.7	1.2308	36955.72	0.2515	1.48
2	22814.23	0.4665	42788.61	0.2908	0.76
4	6839.89	0.3408	22138.55	0.1515	0.49
8	4567.02	0.3056	1935.56	0.0275	0.33
16	NSD	NSD	NSD	NSD	NSD

Tiempo/hr = Es el tiempo de colecta en horas. Altura de la Señal = Es la cantidad detectada del fármaco en la muestra por el CLAR, Concentración Fos Dex = Es la concentración del Fosfato Sódico de Dexametasona, Concentración Dex = Es la concentración de las Dexametasona, Concentración Final mg/ml = Es la suma de la concentración del Fosfato Sódico de Dexametasona y de la concentración de la dexametasona, dándonos la concentración final en miligramos de líquido articular, NSD = No se detecto el fármaco.

CUADRO 36
**VARIABLES FARMACOCINÉTICAS DEL FOSFATO SÓDICO DE
DEXAMETASONA EN EQUINOS DESPUÉS DE LA DOSIFICACIÓN INTRA-
ARTICULAR CON 16 MG**

Caballo	K_{elim_half}	ALFA	BETA	A	B	AUC	RES T	K_{1,2}	K_{2,1}
1	0.036	22.903	0.516	413.925	1.681	21.330	0.333	3.327	0.607
2	0.029	25.811	0.488	1045.162	1.607	43.784	0.190	1.865	0.527
3	0.021	34.275	0.382	4535.599	1.172	35.398	0.088	0.759	0.391
Media	0.028	27.663	0.462	1998.229	1.487	33.504	0.203	1.984	0.508
Des Est	0.007	5.91	0.07	2219.98	0.27	11.35	0.12	1.29	0.11

K_{elim_half} = Constante de vida media de eliminación del fármaco, ALFA= Fase de distribución del fármaco, BETA= Fase de post distribución y eliminación del fármaco, A = Extrapolación de la línea alfa a cero, B = Extrapolación de la línea beta a cero, AUC = Área bajo la curva de la concentración del fármaco, RES T = Tiempo de permanencia del fármaco, K_{1,2} = Constante de distribución del compartimiento 1 al 2, K_{2,1}= Constante de eliminación del compuesto del compartimiento 2 al 1, Des Est = Desviación Estandar.

CUADRO 37

VARIABLES FARMACOCINÉTICAS DEL FOSFATO SÓDICO DE DEXAMETASONA EN EQUINOS DESPUÉS DE LA DOSIFICACIÓN INTRA- ARTICULAR CON 20 MG

Caballo	K_{elim_half}	ALFA	BETA	A	B	AUC	RES T	K_{1,2}	K_{2,1}
4	0.432	5.301	0.105	16.153	1.173	12.713	5.374	4.274	0.868
5	0.566	3.217	0.088	10.384	0.887	14.925	6.403	0.553	0.232
6	0.558	3.797	0.164	8.760	1.243	10.646	3.031	0.632	0.444
Media	0.519	4.105	0.119	11.766	1.101	12.761	4.936	1.820	0.515
Des Est	0.08	1.08	0.04	3.89	0.19	2.14	1.73	2.13	0.32

K_{elim_half} = Constante de vida media de eliminación del fármaco, ALFA= Fase de distribución del fármaco, BETA= Fase de post distribución y eliminación del fármaco, A = Extrapolación de la línea alfa a cero, B = Extrapolación de la línea beta a cero, AUC = Área bajo la curva de la concentración del fármaco, RES T = Tiempo de permanencia del fármaco, K_{1,2} = Constante de distribución del compartimiento 1 al 2, K_{2,1}= Constante de eliminación del compuesto del compartimiento 2 al 1, Des Est = Desviación Estandar.

CUADRO 38
VARIABLES FARMACOCINÉTICAS DEL FOSFATO SÓDICO DE
DEXAMETASONA EN EQUINOS DESPUÉS DE LA DOSIFICACIÓN INTRA-
ARTICULAR CON 24 MG

Caballo	Kelim half	ALFA	BETA	A	B	AUC	RES T	K 1,2	K 2,1
7	1.453	1.368	0.134	4.304	1.031	10.715	5.869	3.387	0.445
8	1.624	1.123	0.102	5.482	0.582	8.951	7.914	1.827	0.267
9	1.296	1.447	0.243	4.449	1.436	8.213	4.530	2.055	0.743
Media	1.458	1.313	0.160	4.745	1.016	9.293	6.104	2.423	0.485
Des Est	0.16	0.17	0.07	0.64	0.43	1.29	1.70	0.84	0.24

K_{elim_half} = Constante de vida media de eliminación del fármaco, ALFA= Fase de distribución del fármaco, BETA= Fase de post distribución y eliminación del fármaco, A = Extrapolación de la línea alfa a cero, B = Extrapolación de la línea beta a cero, AUC = Área bajo la curva de la concentración del fármaco, RES T = Tiempo de permanencia del fármaco, $K_{1,2}$ = Constante de distribución del compartimiento 1 al 2, $K_{2,1}$ = Constante de eliminación del compuesto del compartimiento 2 al 1, Des Est = Desviación Estandar.

CUADRO 39
VARIABLES FARMACOCINÉTICAS DEL PROMEDIO DE LOS GRUPOS
DESPUÉS DE LA DOSIFICACIÓN INTRA-ARTICULAR DE FOSFATO SÓDICO
DE DEXAMETASONA

PR G	K_{elim_half}	ALFA	BETA	A	B	AUC	T RES	K 12	K 21
1	0.028	27.663	0.462	1998	1.487	33.504	0.203	1.984	0.508
2	1.458	1.313	0.119	4.74	1.101	12.761	6.104	1.820	0.515
3	0.519	4.105	0.160	8.84	1.016	9.293	4.936	2.423	0.485
Media	0.668	11.027	0.247	670.6	1.201	18.519	3.748	2.075	0.503
Des Est	0.726	14.475	0.187	1149	0.251	13.092	3.125	0.312	0.016

PR G = Promedio de los grupos, K_{elim_half} = Constante de vida media de eliminación del fármaco, ALFA= Fase de distribución del fármaco, BETA= Fase de post distribución y eliminación del fármaco, A = Extrapolación de la línea alfa a cero, B = Extrapolación de la línea beta a cero, AUC = Área bajo la curva de la concentración del fármaco, RES T = Tiempo de permanencia del fármaco, K_{1,2} = Constante de distribución del compartimiento 1 al 2, K_{2,1}= Constante de eliminación del compuesto del compartimiento 2 al 1, Des Est = Desviación Estandar.