

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE VETERINARIA

Departamento de Toxicología y Farmacología



**FARMACOTERAPIA COMPARADA DE LA
FENILBUTAZONA EN DIFERENTES ESPECIES
ANIMALES: ESTUDIO ALOMÉTRICO**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Carlos Ballesteros Vicente

Bajo la dirección de los doctores
Manuel I. San Andrés Larrea
M^a Teresa Encinas Cerezo

Madrid, 2004

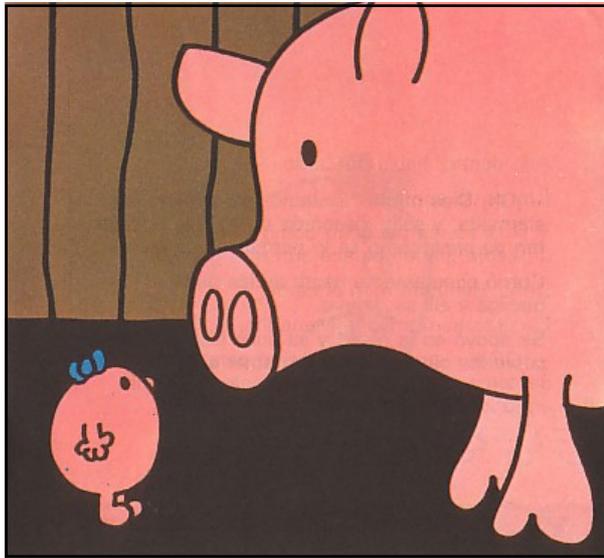
ISBN: 84-669-2671-2



**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE VETERINARIA**

**FARMACOCINÉTICA COMPARADA DE LA
FENILBUTAZONA EN DIFERENTES
ESPECIES ANIMALES: ESTUDIO
ALOMÉTRICO**

**Carlos Ballesteros Vicente
Madrid, 2004**



Don Diminuto era muy bajito. Probablemente sea la persona más bajita que hayas visto en tu vida.

O quizá sea la persona más bajita que jamás hayas visto en tu vida, ya que es tan, tan bajito que de todas maneras nunca le hubieses podido ver.

Don Diminuto era tan grande como un alfiler, que no es mucho. Pero creo que deberíamos decir que Don Diminuto ¡era tan pequeño como un alfiler!

Medir no es conocer. Aún siendo eficaz, la medida despierta falsas ilusiones. Sus paradojas se multiplican con su perfeccionamiento.

Bernard Ronze

No consiste la perfección en la cantidad, sino en la calidad. Todo lo mui bueno fue siempre poco y raro, es descrédito lo mucho. Aun entre los hombre los Gigantes suelen ser los verdaderos Enanos. Estiman algunos los libros por la corpulencia, como si se escribiesen para exercitar antes los braços que los ingenios. La extensión sola nunca pudo exceder de medianía, y es plaga de hombres universales por querer estar en todo, estar en nada. La intensión da eminencia, y heróica si en materia sublime.

Baltasar Gracián

TRABAJO QUE PRESENTA EL
LICENCIADO D. CARLOS BALLESTEROS
VICENTE PARA ASPIRAR AL GRADO DE
DOCTOR EN VETERINARIA.

Fdo.: Carlos Ballesteros Vicente
Madrid, mayo de 2004.

D. MANUEL I. SAN ANDRÉS LARREA y Dña. M^a TERESA ENCINAS CEREZO, ambos Profesores Titulares de Universidad del Departamento de Toxicología y Farmacología de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid.

CERTIFICAN:

Que la memoria presentada por el Licenciado en Veterinaria D. Carlos Ballesteros Vicente con el título: “Farmacocinética comparada de la fenilbutazona en diferentes especies animales: Estudio Alométrico” ha sido realizada bajo nuestra dirección en los laboratorios de la Cátedra de Farmacología.

Madrid, mayo de 2004.

Fdo. M.I. San Andrés Larrea Fdo.: M^a Teresa Encinas Cerezo

ÍNDICE

INDICE

I.- INTRODUCCIÓN	1
II.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
II.1.- Inflamación	7
II.2.- Fármacos antiinflamatorios no esteroideos	12
II.2.1.- Estructura química y clasificación	12
II.2.2.- Acciones farmacológicas	14
II.2.2.1.- Acción antiinflamatoria	15
II.2.2.2.- Acción analgésica	15
II.2.2.3.- Acción antipirética	16
II.2.2.4.- Acción antiagregante	17
II.2.3.- Efectos adversos.....	17
II.2.3.1.- Sistema nervioso central.....	18
II.2.3.2.- Aparato gastrointestinal.....	18
II.2.3.3.- Hígado	19
II.2.3.4.- Sistema urinario.....	19
II.2.3.5.- Reacciones dermatológicas	20
II.2.3.6.- Reacciones hematológicas.....	20
II.2.3.7.- Otros efectos	20
II.3.- Fenilbutazona	21
II.3.1.- Estructura química. Propiedades fisicoquímicas	21
II.3.2.- Usos terapéuticos en Veterinaria	22
II.3.3.- Comportamiento farmacocinético	23
II.3.3.1.- Características generales	23
II.3.3.2.- Factores modificantes.....	27
II.3.3.2.1.- Especie de destino.....	27
II.3.3.2.2.- Factores fisiológicos: edad y sexo.....	28
II.3.3.2.3.- Factores patológicos.....	29
II.3.3.2.4.- Interacciones farmacológicas	30
II.3.3.3.- Particularidades farmacocinéticas por especies.....	31
II.3.3.3.1.- Caballo	31
II.3.3.3.2.- Burro	35
II.3.3.3.3.- Oveja y cabra.....	38
II.3.3.3.4.- Vaca.....	39
II.3.3.3.5.- Camélidos	42
II.3.3.3.6.- Perro	44
II.3.3.3.7.- Conejo.....	47
II.3.3.3.8.- Rata.....	48
II.3.3.3.9.- Ratón.....	50
II.3.3.3.10.- Otras especies	51
II.3.4.- Toxicidad	52

II.3.4.1.- Toxicidad por administración única.....	52
II.3.4.2.- Toxicidad por administración reiterada.....	53
II.4.- Alometría.....	57
II.4.1.- Introducción. Concepto.....	57
II.4.2.- Fundamento y evolución del concepto de alometría.....	59
II.4.3.- Alometría en Farmacología y Terapéutica.....	61
II.4.4.- Escalaje alométrico. Aplicación en Farmacocinética.....	65
II.4.4.1.- Criterios y sistemas generales.....	66
II.4.4.1.1.- Peso corporal y peso cerebral.....	67
II.4.4.1.2.- Superficie corporal y tasa metabólica.....	69
II.4.4.1.3.- Esperanza media de vida.....	70
II.4.4.1.4.- Coeficiente de regresión.....	72
II.4.4.2.- Incorporación del escalaje a un modelo farmacocinético.....	72
II.4.4.3.- Escalaje de los parámetros cinéticos.....	76
II.4.4.3.1.- Aclaramiento.....	77
II.4.4.3.2.- Volumen de distribución.....	79
II.4.4.3.3.- Semivida de eliminación.....	81
II.4.4.4.- Predicción de los parámetros cinéticos a partir de datos <i>in vitro</i>	82
II.4.4.5.- Modelo alométrico de tiempo invariable.....	83
II.4.4.6.- Farmacocinética de poblaciones.....	86
II.4.4.7.- Análisis crítico de la aplicación del escalaje en Farmacocinética.....	89
III.- MATERIAL Y MÉTODOS.....	93
III.1.- Material.....	95
III.1.1.- Material biológico.....	95
III.1.2.- Fármacos y patrones utilizados.....	95
III.1.3.- Reactivos.....	96
III.1.4.- Material fungible.....	96
III.1.5.- Instrumentación.....	97
III.1.5.1.- Extracción y cuantificación.....	97
III.1.5.2.- Material informático.....	97
III.2.- Métodos.....	98
III.2.1.- Preparación de los animales.....	98
III.2.2.- Administración de los fármacos y toma de muestras.....	99
III.2.3.- Preparación de las muestras.....	100
III.2.4.- Detección del fármaco.....	101
III.2.5.- Validación del método extractivo y de cuantificación....	101
III.2.5.1.- Linealidad y precisión. Recta de calibración.....	101
III.2.5.2.- Recuperabilidad.....	102
III.2.5.3.- Límite de detección y cuantificación.....	103

III.2.6.- Determinación de la unión a proteínas plasmáticas	103
III.2.7.- Análisis de datos.....	103
III.2.7.1.- Análisis farmacocinético.....	103
III.2.7.2.- Análisis alométrico	104
III.2.7.3.- Evaluación de los métodos de análisis.....	105
IV.- RESULTADOS	107
IV.1.- Validación del método cromatográfico	109
IV.2.- Estudio farmacocinético.....	109
IV.2.1.- Concentraciones plasmáticas de fenilbutazona.....	109
IV.2.2.- Análisis farmacocinética.....	112
IV.3.- Estudio alométrico	114
IV.3.1.- Escalaje de los parámetros farmacocinéticas.....	114
IV.3.2.- Transformaciones en tiempo invariable.....	117
V.- DISCUSIÓN	121
V.1.- Diseño del protocolo: requisitos cinéticos y alométricos	123
V.2.- Estudio farmacocinética.....	130
V.3.- Estudio alométrico.....	135
V.3.1.- Escalaje de los parámetros cinéticos. Interpolación y extrapolación	135
V.3.2.- Estudio alométrico de tiempo invariable.....	140
V.4.- <i>La otra realidad</i> de los estudios alométricos	141
VI.- CONCLUSIONES	147
VII.- RESUMEN Y SUMMARY	151
VIII.- BIBLIOGRAFÍA.....	155
ANEXO.....	193

I.- INTRODUCCIÓN

I.- INTRODUCCIÓN

A grandes rasgos, puede afirmarse que la Medicina Veterinaria ha ido evolucionando en la medida que lo han ido haciendo las preocupaciones y demandas del hombre, más que de los animales, sus verdaderos pacientes. La inquietud por los animales, en un sentido amplio, no arranca hasta el siglo XIX. El proceso que lleva a la situación actual, en la que la consecución del bienestar animal trata de ser alcanzada por medio de distintas herramientas incorporó hace ya tiempo una de éstas: el medicamento veterinario.

Garantizar la seguridad, eficacia y calidad de los medicamentos veterinarios en relación con los animales de destino permite además de obtener unos beneficios directos en los pacientes a que se destinan, garantizar, indirectamente, la seguridad para el hombre, habida cuenta de las potenciales repercusiones sobre la Salud Pública y el Medio Ambiente. Así pues, la importancia del medicamento veterinario sobrepasa ampliamente su cometido como agente terapéutico, ya que adquiere además un interés zootécnico, sanitario y ecológico, pues se trata de sustancias que pueden ocasionar la aparición de residuos en los alimentos de origen animal destinados al hombre y contaminar el medio ambiente, entre otras posibles consecuencias de su mal uso.

De otra parte, el desarrollo de nuevos fármacos es, así mismo, un proceso regulado en el que la Medicina Veterinaria posee una identidad propia con un amplio abanico de especies en las que los fármacos son empleados. En este sentido, el desarrollo de métodos que permitieran predecir un determinado comportamiento para nuevos fármacos supone uno de los grandes retos de la industria farmacéutica en la actualidad. De este modo, con una menor inversión económica, material y temporal se obtendría un máximo de información. En el caso del hombre, buena parte de la información se obtiene a partir de datos procedentes de animales de laboratorio, para posteriormente pasar al suministro del fármaco a pacientes.

Una de las estrategias que se presenta como una utilísima herramienta para cumplir los fines descritos en líneas anteriores es la Alometría y el *escalaje* entre especies. Se trata de un método de interpolación y extrapolación basado en características anatómicas, fisiológicas y bioquímicas que permite producir datos clínicos de mayor significado, predecir la actividad, eficacia y toxicidad de un determinado compuesto con mayor precisión, disminuir el número de animales empleados en experimentación y acelerar el proceso de obtención de nuevos fármacos.

El *escalaje* de parámetros farmacocinéticos permite extrapolar datos de animales al hombre y viceversa, y para distintas especies animales entre sí, bajo algunas condiciones.

El objetivo del siguiente trabajo era predecir, a partir de datos experimentales farmacocinéticos en siete especies domésticas, el comportamiento de la fenilbutazona empleando el *escalaje* entre especies y la alometría, ésta en sus distintas vertientes.

II.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

II.1. INFLAMACIÓN

La inflamación es un mecanismo defensivo de extraordinaria complejidad. Se trata de la respuesta que, a través de un proceso dinámico, se desencadena ante una agresión local. Mediante dicha respuesta, las células y los tejidos de los organismos responden defensivamente a irritantes, ya sean físicos, químicos, infecciosos o inmunológicos, causantes de la citada agresión. Comprende tanto reacciones inmunológicamente específicas como varias reacciones innatas, sin base inmunológica (Rang, 2000). Dentro de estas últimas se encuentra, por ejemplo, la alteración de los genes codificadores de numerosos mediadores, participantes activos del proceso inflamatorio, cuya alteración provoca una inflamación espontánea (Nathan, 2002). El resultado deseable de este proceso es la eliminación, la destrucción del agente lesivo, “tabicando” la zona dañada, aislándola del resto de los tejidos para resolver la lesión inflamatoria, de manera que se restauren plenamente las condiciones normales del tejido. Cuando esto sucede la naturaleza protectora y homeostática de la inflamación es evidente.

Clásicamente, se define la inflamación por los cuatro signos cardinales de Celso: calor (aumento de la temperatura en la zona de la lesión), rubor (enrojecimiento), tumor (hinchazón o agrandamiento) y dolor; a éstos, posteriormente, añadió Galeno, hacia 180 d.C., un quinto signo: la *functio laesa*, alteración o pérdida de función (Lorenzo, 1970).

La inflamación, como ya hemos comentado, desencadena un complejo repertorio de reacciones como respuesta. En las fases iniciales del proceso inflamatorio tienen lugar una serie de acontecimientos en las fibras nerviosas y los vasos sanguíneos. Pero a grandes rasgos, esa cascada de acontecimientos resulta de la suma de las acciones de ciertas células y de numerosas moléculas, diversos mediadores cuyo papel en algunos casos aún está por esclarecer completamente. Todos estos hechos pueden resumirse en los siguientes puntos:

1. Cambios microcirculatorios. Se produce vasodilatación arteriolar local con exceso de flujo sanguíneo y aumento de la permeabilidad de las vénulas, con flujo de grandes cantidades de líquido hacia los espacios intersticiales, salida de plasma sanguíneo, nutrientes y mediadores, con formación de líquido edematoso (Lees y cols., 1991).

2. Coagulación de líquido en el espacio intersticial a causa de las cantidades excesivas de fibrinógeno y otras proteínas que salen de los capilares.
3. Desplazamiento de leucocitos al sitio de lesión. Migración hacia el tejido de gran número de granulocitos y monocitos y, en menor medida, linfocitos, plaquetas, polimorfonucleares, mastocitos, etc. Los primeros pasos en la patogénesis de la inflamación son la adhesión de leucocitos al endotelio vascular y emigración de aquéllos a su través (Cronstein & Weissmann, 1995). Secundariamente, se ve potenciado el efecto de otros mediadores de la inflamación como histamina, bradiquinina y serotonina (Lees y cols., 1991).
4. Tumefacción celular. Como resultado de los procesos desencadenados existe aumento del depósito de líquido intracelular y la consiguiente hinchazón.

Distinguimos entre inflamación crónica e inflamación aguda. Si se prolonga el estímulo agresor o éste resulta excesivo, la inflamación puede volverse crónica, y los cambios microcirculatorios característicos de la inflamación aguda se reemplazan por lesiones típicas de la enfermedad crónica, incluso destrucción tisular y formación de tejido fibroso (Gallin y cols., 1992). Puede, en este caso, provocarse un daño superior a la alteración original.

Así pues, el desarrollo de los acontecimientos subsiguientes a la inflamación original conducirá, bien a la curación, bien a la inflamación crónica. Si el irritante es eliminado, los desechos inflamatorios son retirados mediante fagocitosis, licuefacción y absorción. Los tejidos dañados son regenerados o reemplazados por tejido cicatricial. Sin embargo, si permanece el agente causante, persistirán la inflamación crónica y la alteración de la función tisular asociada.

Dentro de las células implicadas, todas ellas pertenecientes al sistema inmune, el papel desempeñado puede ser de iniciación de la respuesta inflamatoria, a cargo de los linfocitos T; o bien de regulación de la misma. En el foco puede encontrarse también la presencia de macrófagos, neutrófilos, mastocitos y basófilos. De hecho, el organismo reacciona al trauma como si la emergencia se tratara de una infección, mientras no se demuestre lo contrario (Nathan, 2002).

Con respecto a las sustancias que se ven involucradas, mencionar que intervienen ciertos mediadores celulares, histamina, serotonina, bradiquinina, anafilotoxinas, óxido nítrico, distintos neuropéptidos, el interferón, el factor

de crecimiento nervioso, productos de la reacción del sistema de complemento y opsoninas -estrechamente relacionados entre sí-, quininas y sistema de contacto de la coagulación de la sangre, glucocorticoides, adrenalina y noradrenalina, citoquinas (interleucinas, TNF -o factor de necrosis tumoral-, TGF- β -o factor transformador de crecimiento β - y PAF -factor activador de plaquetas-), etc. (Haaksma y cols., 1990; Dray & Bevan, 1993; Espinós, 1999; Nathan, 2002; Tracey, 2002).

Las enzimas proteolíticas y otras enzimas destructoras de tejidos participan en la inflamación crónica, pero no se conoce exactamente su función, al igual que con las sustancias a cargo de la reparación tisular.

Así pues, el gran número de mediadores existentes complica enormemente el alcance de un conocimiento cabal del proceso. Además, en ocasiones, existen interacciones entre ellos. Pero la dificultad se ve incrementada tanto por las diferencias en los papeles desempeñados por los mediadores entre especies como por el descubrimiento de nuevos agentes, cuyo papel en el proceso es sólo conocido con exactitud tiempo más tarde.

Deliberadamente hemos dejado para el final a un grupo de sustancias: los eicosanoides. Cuando por cualquier mecanismo las células son dañadas se inicia en las células la producción de eicosanoides, cuya fuente principal es el ácido araquidónico. Se producen *de novo* a partir de fosfolípidos, pero el ácido araquidónico no existe en forma libre en el interior de las células, sino esterificado en los fosfolípidos de membrana. Su liberación al citoplasma depende de la acción de acilhidrolasas, en particular de las fosfolipasas celulares (C, A₂ ó ambas) cuya activación tiene lugar al dañarse la membrana celular o mediante el incremento de las concentraciones citosólicas de calcio (Higgins y cols., 1984; Pérez Ruiz y cols., 1998). De este modo, el ácido araquidónico está disponible para ser empleado en la cascada de la cicloxigenasa (COX), en la de la lipoxigenasa (LOX) o en otras rutas metabólicas oxidativas (Meot & Bonnet, 1992). La actividad de las diferentes rutas y la cantidad de eicosanoides producidos varía en función del tipo celular (MacAllister, 1994).

Otras vías no enzimáticas identificadas generan nuevos agentes derivados del ácido araquidónico, denominados isotranos. Estos compuestos presentan estructuras semejantes a las prostaglandinas que surgen en vivo de la peroxidación del ácido araquidónico, reacción catalizada por radicales libres, pero su producción no es bloqueada por agentes que suprimen el metabolismo del ácido araquidónico libre (Pérez-Ruiz y cols., 1998).

Los eicosanoides principales son los leucotrienos y los prostanooides:

Leucotrienos (vía lipoxigenasa). La lipooxigenasa puede usar el ácido araquidónico como sustrato. Para que se produzca la síntesis es necesaria la acción de una proteína activadora de la lipooxigenasa (FLAP) que propicia la unión del ácido araquidónico a la misma (Vega, 1995). La secuencia a partir del ácido araquidónico por vía de la 5 y 12-lipoxigenasa da lugar a los ácidos 5 y 12 hidroperoxiaraquidónicos (HPETE) y, finalmente, a los leucotrienos. Reciben este nombre porque se forman en los leucocitos y tienen en su molécula, de 20 átomos de carbono, tres dobles uniones conjugadas (Espinós, 1999).

Existen dos grupos mayores de leucotrienos. El primero, que comprende los llamados sulfidopépticos, ya era conocido hace más de 50 años. Incluye los leucotrienos LTC₄, LTD₄ y LTE₄. La existencia del segundo grupo es conocida desde el año 1980, el cual es representado por el leucotrieno B₄. Durante la respuesta inflamatoria la formación de leucotrienos se expresa con marcada especificidad celular, tanto cuantitativa como cualitativamente. En cualquier caso, el tipo de estímulo también va a influir notablemente.

Prostanooides (vía cicloxigenasa). Este término abarca las prostaglandinas y los tromboxanos. Las prostaglandinas son los mediadores celulares más abundantes, encontrándose prácticamente en todos los tejidos y fluidos del organismo (Moncada y cols., 1982).

Los estímulos que intervienen en la producción de las prostaglandinas son variados (Fu y cols., 1990). Los prostanooides, una vez producidos, no se almacenan en la célula, son difundidos rápidamente fuera de la misma, iniciando un amplio espectro de actividades biológicas. En la biosíntesis de prostaglandinas, la cascada de la ciclooxygenasa rinde finalmente prostaglandina E₂ (PGE₂), prostaciclina (PGI₂) y tromboxano (TXA₂).

La enzima prostaglandín hidropéroxido sintetasa (PGHS) es la responsable de la síntesis de los prostanooides y presenta dos acciones (Ohki y cols., 1979):

1. Endoperóxido sintetasa o ciclooxygenasa (COX). Oxigena al araquidonato y posteriormente lo cicla, rindiendo PGG₂.
2. Peroxidasa (POX). Conversión (reducción) del PGG₂ en PGH₂.

La ciclooxygenasa (COX) existe bajo dos formas independientes (isoenzimas): COX-1/PGHS₁ y COX-2/PGHS₂ (Fagan y cols., 1989; Smith & Marnett, 1991), cuyas actividades y localización son distintas (Vane & Botting, 1998; Mitchell & Evans, 1998). Leves diferencias en la estructura

primaria parecían sugerir distintos comportamientos y afinidades por substratos de ácidos grasos y por ende de las acciones que sobre las ciclooxigenasas provocaban los antiinflamatorios no esteroides (AINE) (Laneuville y cols., 1994). En efecto, se trata de dos proteínas de estructuras aminoacídicas y pesos moleculares (Kaplan-Machlis & Storyk Klostemeyer, 1999) codificadas por distintos genes (Crofford, 1997) y con diferentes ARNm.

Actualmente ambas enzimas (COX-1 y COX-2) están bien caracterizadas morfológica y genéticamente (Xie y cols., 1992; Sirosis & Richards, 1992), de modo exhaustivo en la especie humana, ratón y oveja (Laneuville y cols., 1994). La estructura parece ser prácticamente idéntica entre las distintas especies de mamíferos. La secuencia aminoacídica, que consta de unos 600 aminoácidos, parece coincidir en un 90% (Xie y cols., 1992). La homología en la secuencia molecular para la misma especie ronda el 60% (Smith, 1992; Vane, 1994).

La COX-1 es una enzima constitutiva presente en un amplio número de tejidos y en las plaquetas, purificada y clonada inicialmente en células de vesícula seminal de carnero (Landoni, 2002). Presenta concentraciones estables, si bien ante ciertos estímulos (hormonas, factores de crecimiento) puede aumentar aquéllas 2-4 veces (Díaz y cols., 2003). Se trata de una isoforma involucrada en un amplio abanico de funciones fisiológicas (Willoughby y cols., 2000), pues los prostanoideos que produce están implicados en la homeostasis. Es responsable de la síntesis de tromboxano A₂ y prostaglandinas (E₂-I₂). Sus acciones más destacadas, continuas y de tipo protector, se presentan en el tracto gastrointestinal, plaquetas, células endoteliales, zona medular de los túbulos colectores e intersticio renal (Vane & Botting, 1998; Espinós, 1999; Garavito & DeWitt, 1999), además de una función de homeostasis vascular y otras funciones protectoras (Lees y cols., 2000; Landoni, 2002).

La COX-2 es la isoforma celular inducible a partir de un estímulo marcado, pero generalmente transitorio. Dicho estímulo es provocado por citoquinas, factores de crecimiento, mitógenos, estímulos inmunológicos e inflamatorios o lipopolisacáridos (Díaz y cols., 2003). No se halla éste enzima, o en escasas cantidades, en los diversos tejidos en reposo. Es responsable de la producción de prostaglandinas implicadas en la respuesta inflamatoria. Se expresa en las células endoteliales, macrófagos, fibroblastos sinoviales, mastocitos, condrocitos y osteoblastos tras un traumatismo tisular. De ahí su directa implicación en las elevadas concentraciones de eicosanoides en los tejidos inflamados. Actúa sobre ovario y útero, células articulares, SNC y riñón (Meade y cols., 1993; Vane & Botting, 1998;

Garavito & DeWitt, 1999; Wallace y cols., 1999). Otros posibles *roles* de la enzima incluyen acciones en ciertos tumores, enfermedad de Alzheimer y procesos artríticos, así como inhibición de la apoptosis (Díaz y cols., 2003).

Recientemente se ha postulado la existencia de una tercera isoforma de esta familia enzimática, COX-3 (Willoughby y cols., 2000), que pudiera ser un producto diferente del mismo gen que codifica la COX-2, pero con diferentes características moleculares (Botting, 2000). Dicha enzima se expresaría en ciertas circunstancias, y su evidencia tendría lugar ya durante la fase de resolución del proceso inflamatorio (Willoughby y cols., 2000). En fechas más cercanas, dicha enzima ya ha sido descrita, junto con dos pequeñas proteínas derivadas de COX-1. Se encontró en distintas especies y tejidos. Esta enzima es inhibida selectivamente por diferentes fármacos analgésicos y antipiréticos, y de manera potente por ciertos AINE (Chandrasekharan y cols., 2002).

II.2. FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS

Desde un punto de vista químico, los agentes antiinflamatorios en uso se pueden dividir de manera amplia en dos grupos principales: esteroides (corticosteroides) y no esteroides, más un tercero que incluiría compuestos no relacionados entre sí, de variados efectos. Atendiendo al tipo de acción los fármacos que poseen alguna actividad frente al proceso inflamatorio desarrollan a menudo una actividad específica, incluso una única acción o frente un solo mediador (Jaráiz, 1997). Sería este criterio el que siguieron McKellar y cols. (1995) para establecer una clasificación que dividía a los compuestos participantes en la inflamación en distintas categorías: antagonistas de receptores H₁, bloqueadores de la fosfolipasa A₂, inhibidores de la ciclooxigenasa, inhibidores de las 5-lipoxigenasas, inhibidores duales (lipoxigenasa/ciclooxigenasa), etc.

II.2.1. Estructura química y clasificación

Los AINE constituyen uno de los grupos terapéuticos más utilizados en la práctica clínica actual, y comprenden fármacos de estructura muy diversa, pese a lo cual comparten un mismo mecanismo de acción (Verbeeck y cols., 1983) y, de manera general, las mismas acciones farmacológicas, usos terapéuticos y efectos secundarios (Tobin y cols., 1986).

Su empleo permite mitigar dolores suaves y moderados, ya que

provocan un leve efecto analgésico además de su marcado efecto antiinflamatorio. A diferencia de los analgésicos opiáceos, no producen hipnosis, ni alteraciones de la percepción, ni dependencia ni adicción. Además, son menores sus efectos tóxicos. El fármaco tipo del grupo es el ácido acetilsalicílico.

Entre los distintos tipos de clasificación posibles, la que atiende a su estructura química, que a su vez condiciona las acciones farmacológicas, permite distinguir entre ácidos carboxílicos y ácidos enólicos, dentro de cada uno de los cuales existen a su vez distintos subgrupos. Según este criterio, las diferencias entre autores son nimias (Kallings, 1993; Insel, 1998). De acuerdo con Botana y cols. (2002):

Derivados de ácidos carboxílicos:

- Ácidos aminonicotínicos.
- Ácidos indolacéticos.
- Ácidos heteroarilacéticos.
- Ácidos propiónicos.
- Ácidos antranílicos.
- Oxindoles.
- Paraminofenoles.
- Salicilatos.

Derivados de ácidos enólicos:

- Naftilcanonas.
- Oxicams.
- Pirazolonas.

Por otra parte, la aplicación del test HMWA (Human modified whole-blood assay) según la proporción COX-2/COX-1 puede también ser de utilidad para su clasificación (Warner y cols., 1999). La concentración inhibitoria del 50% (IC₅₀), expresada según una proporción [COX-1(IC₅₀):COX-2(IC₅₀)] (Pairet & Van Ryn, 1998) es otro criterio útil. En otros casos se atiende a la selectividad de los diferentes compuestos que integran el grupo por las enzimas COX-1 y COX-2 (Cryer & Feldman, 1998). De acuerdo con este criterio, los AINE pueden encuadrarse en cinco grupos distintos (Kulkarni y cols., 2000):

- Altamente selectivos frente a COX-1
- Relativamente selectivos frente a COX-1
- Altamente selectivos frente a COX-2
- Relativamente selectivos frente a COX-2
- Selectividad semejante frente a las dos enzimas.

De hecho, los primeros fármacos antiinflamatorios no esteroideos mostraron *in vitro* actividad inhibitoria sobre COX-1 y COX-2 (Warner y cols., 1999). La capacidad inhibitoria combinada de las isoformas da lugar a una nueva agrupación de los AINE, en cuatro grupos (Warner y cols., 1999; Nolan, 2000; Landoni, 2002):

1. Inhibidores COX-1 selectivos. *Ácido acetil salicílico, indometacina, vedaprofeno.*
2. Compuestos de baja selectividad inhibitoria conjunta COX-1/COX-2. *Flunixin-meglumine, ketoprofeno, diclofenaco, ibuprofeno, piroxicam, ketorolaco.*
3. Inhibidores COX-2 selectivos. *Naproxeno, etodolaco, meloxicam, nimesulide, carprofeno.*
4. Inhibidores COX-1 específicos. *Celecoxib, rofecoxib, compuestos de nueva síntesis.*

II.2.2. Acciones farmacológicas

Sería Sir J.R. Vane en 1971 quien demostrara que concentraciones bajas de ácido acetilsalicílico, el fármaco tipo de los antiinflamatorios no esteroideos, impedían la síntesis de prostaglandinas mediante la inhibición de la ciclooxigenasa, enzima que convierte el ácido araquidónico en endoperóxidos cíclicos PGG₂ y PGH₂. Dicha inhibición se producía al impedir la sustracción del hidrógeno del C₁₃ del ácido araquidónico y bloqueada la peroxidación de los carbonos 11 y 15. Posteriormente se comprobó que el tipo de inhibición varía según el AINE y puede ser estereoespecífica, competitiva/no competitiva, reversible/irreversible.

Por tanto, los efectos de los AINE básicamente son consecuencia de la inhibición de las diferentes acciones de que son responsables los prostanoideos, incluidas las prostaciclina y el tromboxano. La comprensión de los efectos terapéuticos de los AINE pasa por la de los eicosanoides, su producción y los efectos fisiológicos y patológicos (MacAllister, 1994). Dichas acciones tienen una considerable amplitud, que obedece tanto a su liberación en diferentes especies animales y tejidos ante una notable variedad de estímulos como a su diversificación a partir de una estructura básica común. Conviene no olvidar, sin embargo, que unas de las acciones más sobresalientes tienen lugar frente a la inflamación local y general (Vega, 1995).

Los AINE poseen, en mayor o menor medida, cuatro acciones farmacológicas características; de alguna de ellas pueden llegar a carecer

ciertos compuestos.

II.2.2.1. Acción antiinflamatoria

La principal acción terapéutica de los AINE y fármacos semejantes al ácido acetil salicílico es su capacidad de disminuir la respuesta inflamatoria gracias al bloqueo de la síntesis de prostanoïdes mediante inhibición de la enzima ciclooxigenasa (Vane, 1973; Vane, 1994; Vane & Botting, 1998). Ante la existencia de una lesión tisular, los prostanoïdes aumentan notablemente su síntesis, potenciando la respuesta inflamatoria. Al inhibir su síntesis, ésta se ve reducida, observándose una mejora en los procesos que la inflamación desencadena. En cualquier caso, la efectividad de los AINE dependerá del tipo de proceso inflamatorio, la participación de ciertos eicosanoïdes y la posible modificación de otros mecanismos diferentes al de la inhibición de la ciclooxigenasa.

II.2.2.2. Acción analgésica

Pese a que las acciones y efectos de los diferentes fármacos empleados para aliviar el dolor y el estrés difieren poco entre las distintas especies de mamíferos, existe una considerable variación en la respuesta a aquéllos (Benson & Thurmon, 1987). Los AINE disminuyen la hipersensibilidad provocada por la inflamación, pero no disminuyen la percepción del dolor en los tejidos no inflamados (Kallings, 1993; Tobin y cols., 1986). La respuesta analgésica que logran, indicada para dolores de baja o moderada intensidad, es más débil que la obtenida por los analgésicos narcóticos tipo morfina.

Las prostaglandinas amplifican los mecanismos periféricos de la percepción del dolor mediante la disminución del umbral sensitivo de los nociceptores (Jenkins, 1987). Para ello, se unen a los receptores terminales de los nervios sensoriales estimulando la descarga de impulsos nerviosos. Se causa así un aumento de dolor; así mismo, estas sustancias sensibilizan las terminaciones aferentes frente a los efectos de estímulos físicos y químicos, los cuales, a su vez, estimulan la síntesis de otras sustancias como histamina y bradiquinina, que también actúan sensibilizando los receptores del dolor (Kallings, 1993). Se ha sugerido que la tasa de descenso del efecto farmacológico es característica de la propia analgesia e indicaría la existencia de una sustancia endógena mediadora del efecto analgésico (Walker, 1995).

De acuerdo con lo anteriormente descrito, la disminución de las prostaglandinas por inhibición de los AINE disminuye la hipersensibilidad dolorosa asociada a la reacción antiinflamatoria. Algunos autores han constatado la ausencia de relación entre capacidad de inhibición de las prostaglandinas *in vitro* y eficacia analgésica para los AINE (MacCormack & Brune, 1991).

Los estudios acerca de los efectos analgésicos de los AINE son escasos debido a la dificultad inherente que entraña la medida del dolor. Influyen además otra serie de condicionantes, como la considerable variación individual en la respuesta, el desarrollo de tolerancia o la implicación de efectos centrales y/o periféricos (Walker, 1995). Sin embargo, en última instancia, tendrán un notable peso los numerosos compuestos liberados localmente, mediadores o facilitadores del proceso inflamatorio. La diferencia en la respuesta de las isoenzimas COX-1 y COX-2 condicionará el efecto de los distintos AINE con arreglo a la inhibición de una u otra.

II.2.2.3. Acción antipirética

La fiebre es una clase de hipertermia en la cual el punto de termorregulación en el hipotálamo se sitúa más elevado por acción de los pirógenos endógenos. Se trata de una manifestación clínica que frecuentemente acompaña a los procesos inflamatorios, sobre todo infecciosos, cuyo mecanismo exacto se desconoce, pero en la que se tiene constancia de la participación de mediadores: monoaminas, acetil-colina y prostaglandinas E₁ y E₂ (Castaño-Bello, 1995).

Los AINE reducen la temperatura corporal cuando ésta se halla previamente aumentada por acción de pirógenos, es decir, cuando hay fiebre. En ausencia de fiebre, salvo condiciones muy especiales, no producen hipotermia.

Por tanto, la acción antipirética de los AINE es debida, de nuevo, a la inhibición de la producción de prostaglandinas, como consecuencia de la actividad de la enzima ciclooxigenasa en el centro hipotalámico termorregulatorio. Pero existe además un mecanismo periférico, consecuencia indirecta de otros efectos provocados por los AINE: vasodilatación e incremento del flujo periféricos, con sudoración. Como consecuencia, se incrementa la pérdida de calor (Serrano & Serrano, 1993; Insel, 1998).

II.2.2.4. Acción antiagregante

Esta propiedad sólo la poseen algunos AINE como el ácido acetil salicílico. Aparece a una dosis más baja que la necesaria para producir los efectos anteriores. Así, dosis pequeñas de ácido acetil salicílico producen efectos potentes y perdurables en la función plaquetaria, lo cual es aprovechado para prevenir o tratar cuadros que cursan con hiperagregabilidad plaquetaria (arteriopatías coronarias, trombosis de venas profundas, evolución postoperatoria) (Patrono, 1994). El ácido acetil salicílico inactiva de forma irreversible la enzima ciclooxigenasa por medio de la acetilación de un residuo sérico de la cadena proteica. El efecto máximo depende del bloqueo selectivo de la síntesis de TXA₂ por las plaquetas sin impedir la producción de PGI₂ por las células endoteliales. Dado que las plaquetas carecen de actividad metabólica celular no están capacitadas para producir una enzima adicional que pueda sintetizar tromboxanos (Martín-Jiménez & Papich, 2002; Jackson Roberts II & Morrow, 2003).

Según investigaciones más recientes, han sido encontradas otras aplicaciones terapéuticas (Díaz y cols., 2003) para los AINE, como por ejemplo:

- Anti-endotoxémica (Sandholm y cols., 1990).
- Inhibidora de prostaglandinas pro-cancerosas en tumores (Landoni, 2002).
- Reductora de la pérdida de proteoglicano en el tejido cartilaginoso, mecanismo hasta ahora sólo demostrado *in vitro* (Lees y cols., 2000).
- Profilaxis de la enfermedad de Alzheimer en la especie humana (Lees y cols., 2000).

II.2.3. Efectos adversos

Las reacciones adversas y los efectos secundarios provocados por los AINE han sido, dadas su trascendencia e incidencia, un tema recurrente (Whitehouse & Rainsford, 1976; Rainsford, 1984a; Rainsford, 1984b; O'Brien, 1986; Kore, 1990).

Los efectos secundarios de los AINE van a depender estrechamente de la dosis y/o vía de administración, de las propiedades cinéticas intrínsecas de cada compuesto estudiado y de la especificidad enzimática. De hecho, largas semividas de eliminación prolongan un continuado déficit en la producción de prostaglandinas, de modo que quedan inhibidos por más tiempo sus

efectos fisiológicos (Sharma y cols., 1999). O'Brien (1986) afirma que la aparición de reacciones adversas obedece a tres factores: edad, interferencia en la síntesis de prostaglandinas y un tercero puramente idiosincrático.

La naturaleza ácida de los AINE determina en buena medida sus acciones y efectos secundarios, pues debido a ella tienden a su acumulación en tejidos inflamados, los cuales tienden también a la acidificación. Esto se manifiesta sobre todo en estómago, riñón e intestino delgado, por lo que pueden llegar a producir lesiones en estos tejidos.

Pese a que el porcentaje mayor de lesiones corresponde a esos tejidos, las manifestaciones tienen lugar prácticamente en todos los órganos y sistemas:

II.2.3.1. Sistema nervioso central

Las prostaglandinas se encuentran asociadas a numerosas funciones relacionadas con el SNC: desarrollo neuronal, regulación de la temperatura, hiperalgesia y neuromodulación (Jones & Budsberg, 2000). A dosis terapéuticas producen ligera acción sedante, en tanto que a dosis altas estimulan el SNC. Por ello, son diversos los efectos farmacológicos relacionados con la administración de los AINE: sedantes, tranquilizantes, anticonvulsivantes y paralizantes. Además, aumentan los reflejos centrales no espinales e inhiben las descargas neuronales estimuladas por noradrenalina (Flórez, 1997).

II.2.3.2. Aparato gastrointestinal

Los AINE se caracterizan por inducir un número elevado de alteraciones y lesiones gastrointestinales. Son frecuentes los efectos menores: dispepsia, dolor gástrico, diarrea y estreñimiento,... Quizá el efecto más preocupante proviene de su capacidad para lesionar la mucosa gástrica y duodenal. Si bien el efecto principal tiene lugar en el estómago (región del corpus y del antro, en la especie humana), el intestino, sobre todo el delgado, también puede sufrir su acción (Wallace, 1994). La absorción rápida en el inicio del estómago se relaciona con la intensa irritación gastroduodenal y la ulceración (Brune & Beck, 1991). El alto grado de circulación enterohepática suele relacionarse con ulceración y perforación de íleon y yeyuno.

Los factores, cuya intensidad es variable, que intervienen en la patogenia de la lesión son (Flórez, 1997):

1. Alteración de la permeabilidad de la membrana. Se producen diversos movimientos iónicos, salida celular de

- Na⁺ y K⁺ y retrodifusión de iones hidrógeno desde la luz gástrica al espacio intracelular.
2. Modificación de la secreción mucosa de la pared gástrica: alteración del moco y reducción de la secreción de bicarbonato.
 3. Microcirculación de la mucosa reducida o aumentada, según el caso.

En definitiva, las acciones de los AINE sobre el sistema gastrointestinal pasan principalmente por el sangrado consecuencia de la erosión y posterior ulceración, ya sea de manera aguda o crónica. La ulceración gástrica e intestinal suele acompañarse de anemia e hipoproteinemia secundarias a las pérdidas sanguínea y de plasma (Core, 1990).

II.2.3.3. Hígado

La intensa metabolización hepática (efecto de primer paso) de ciertos compuestos parece relacionarse con la aparición de lesiones hepáticas. Además, ciertos compuestos presentan recirculación enterohepática, que podría deberse a la generación de productos intermedios de la reacción (Brune & Beck, 1991).

De otra parte, se ha asociado la ingestión de paracetamol con la aparición de cuadros tóxicos en hígado (Prescott, 2000).

II.2.3.4. Sistema urinario

Las prostaglandinas influyen sobre la capacidad del riñón para regular el equilibrio hídrico por medio de distintos mecanismos. Además, en diversas situaciones patológicas en las que está comprometida la función renal, el riñón incrementa la producción de prostaglandinas. La actividad de los AINE reduce la velocidad de filtración glomerular y el flujo renal, provocando así nefropatías de carácter agudo. Así mismo, los AINE disminuyen la capacidad renal de dilución de la orina, provocan retención de Na⁺ y, en ocasiones, hipopotasemia. Buena parte de todas las reacciones mencionadas provienen del efecto directo sobre la ADH.

II.2.3.5. Reacciones dermatológicas

Ocasionalmente, los AINE pueden provocar reacciones alérgicas y pseudoalérgicas, las cuales parecen diferenciarse por su mecanismo de acción (Flórez, 1997). Se desencadenan procesos como anafilaxia, urticaria o fotosensibilización, junto con otras reacciones cutáneas. Las reacciones no son dosis-dependientes y no parecen relacionarse con el efecto terapéutico del fármaco, aunque el verdadero mecanismo desencadenante se desconoce (Mandell, 1999; Levy, 2000). En general, se trata de reacciones bastantes suaves, excepto para el caso del eritema multiforme (O'Brien, 1986).

II.2.3.6. Reacciones hematológicas

Parecen relacionarse con sobredosificaciones, procesos de naturaleza idiosincrática o mecanismos inmunitarios (Flórez, 1997). Entre las descritas destacamos leucopenia, agranulocitosis, inhibición de la agregación plaquetaria, trombocitopenia y anemia aplásica.

II.2.3.7. Otros efectos

Dentro de este apartado se incluyen las alteraciones cromosómicas, pese a que para otros autores los tratamientos prolongados a la dosis terapéutica de FBZ no producen efecto alguno sobre los cromosomas (Stevenson y cols., 1972; Smith y cols., 1979).

En otros casos pueden sobrevenir afección del sistema respiratorio (asma, edema pulmonar agudo, infiltrado pulmonar difuso, etc.), reacciones febriles, vasculitis, etc.

II.3. FENILBUTAZONA

II.3.1. Estructura química. Propiedades físicoquímicas

Fue sintetizada por primera vez en 1946 por H. Stenzyl en Suiza, para ser comercializada por los Laboratorios Geigy con el nombre de Butazolidina® (Jeffcott & Colles, 1977). Se introdujo en la práctica veterinaria a principios de la década de los 50 (Bogan y cols., 1986), más concretamente el año 1952 (Rainsford & Velo, 1983). Tal vez sea el fármaco más extensamente empleado en medicina equina (Tobin, 1979 y 1981; Lees & Higgins, 1985).

El grupo de las pirazonas, en el que se incluye la fenilbutazona, contiene en su estructura una cetona derivada del pirazol y, junto a los oxicams, se incluye dentro de los ácidos enólicos. Las pirazonas son ácidos débiles, cuyo pKa oscila entre 3,5-6,5, propiedad que les confiere el protón disociable en el carbono 4 del anillo pentano. Su absorción, rápida y extensa, se ve favorecida por el medio ácido del estómago, donde mayoritariamente se encuentran en forma no ionizada (Puyt y cols., 1992).

La fenilbutazona es la 4-Butil-1,2-difenilpirazolidina-3,5-diona ($C_{19}H_{20}N_2O_2$). También de naturaleza ácida, la FBZ posee un pKa de 4,4/4,5 según la fuente consultada; el de su metabolito principal, la oxifenbutazona (OFBZ), se encuentra muy próximo (4,7) (Puyt y cols., 1992). Posee además carácter lipofílico, atribuido a los anillos bencénicos y al grupo butílico. El peso molecular es de 308,4. Se presenta como polvo cristalino blanco o casi blanco, prácticamente inodoro y fotosensible. Insípida en primera instancia, deja más tarde un regusto amargo (Plumb, 1999). Apenas es soluble en agua y escasamente en etanol: 1 gramo/28 mililitros del alcohol. Se disuelve bien, sin embargo, en disolventes orgánicos (éter y acetona, entre otros) (Martindale, 1999; British Pharmacopoea, 1999). Su punto de fusión se encuentra entre 104-107 °C (Laik, 1982).

Para la FBZ, la inhibición de la isoenzima COX-1 es mayor que la de COX-2 (Brideau y cols., 2001) y con mayor potencia (entre 1 y 5 veces) la PGHS-1 que la PGHS-2, lo que se manifiesta en los efectos secundarios que ello provoca. A una concentración de 160 μ M la FBZ (10 veces el valor de IC₅₀ para PGHS-1 en humana) no mostró ningún efecto tiempo-dependiente sobre ninguna de las dos enzimas (Laneuville y cols., 1994).

II.3.2. Usos terapéuticos en veterinaria

Dentro del campo de la Farmacología Veterinaria, la fenilbutazona está disponible en la actualidad tanto en compuestos parenterales para administración intravenosa como en preparados para administración oral (Veterindustria, 2003). Las especies de destino incluyen perros y gatos, si bien casi exclusivamente se emplea en équidos.

NOMBRE COMERCIAL	LABORATORIO	ESPECIES DE DESTINO		
		EQUIDOS	CÁNIDOS	FÉLIDOS
ARTRIVET FORTE	DIVASA-FARMAVIC S.A.	•	•	•
BUTAFENIL	LAB. CALIER	•		
BUTASYL	FORT-DODGE VET.	•		
BUTAZIVEN	LAB. IVEN	•	•	•
PREDNIBUTAL	ESTEVE VETERINARIA	•		
SOLEMIX BUTAPIRINA	LAB. JAER	•		
EQ ZONA	LAB. CALIER	•		

Las indicaciones que para la FBZ se recogen abarcan procesos muy diversos: afecciones del aparato locomotor de tipo primario, procesos inflamatorios comunes a osteopatías, adenopatías, neumopatías, mamitis, etc., inflamaciones agudas (endocarditis, miocarditis), artritis de cualquier naturaleza (incluidas infecciosas), analgesia, antipirexia, reumatismo, etc. De hecho, la FBZ ha sido empleada en medicina tanto humana como veterinaria (Kore, 1990) y es tratamiento de elección, dentro de los AINE, para procesos en animales de producción (Kopcha y cols., 1992) que cursan con cuadros de inflamación y dolor muscular.

II.3.3. Comportamiento farmacocinético.

II.3.3.1. Características generales

Existen constatadas variaciones en el comportamiento cinético de la FBZ entre las diferentes especies (Brook & Day, 1991). Pese a estas modificaciones, que obedecen a factores muy diversos, sí pueden señalarse unas características comunes a todas ellas.

1. Buena absorción por vía oral. En líneas generales, la biodisponibilidad de los preparados para administración oral depende de numerosos factores -dosis, vía, propiedades fisicoquímicas, tipo de formulación e individuo (Obach & Doménech, 1998)-, a los que cabe añadir la especie de destino (Baggot, 1992b). Para la FBZ el proceso tiene lugar extensa y rápidamente debido a la liposolubilidad de la forma no ionizada (Puyt y cols., 1992) en el tracto gastrointestinal, sobre todo en intestino delgado – al estar aumentada la superficie de contacto- y recto, con picos de concentración plasmática tras dos horas de la ingestión (Veerbeck y cols., 1983). Administrada en polvo, la biodisponibilidad alcanza un valor del 70% (Sullivan & Snow, 1982). Se produce retardo de la absorción con el alimento (ver 2.3.3.2.).

2. La administración parenteral comprende las vías intramuscular e intravenosa (lenta). La naturaleza ácida del fármaco requiere su vehiculización en soluciones alcalinas (soluciones salinas de sodio, Faigle & Dieterle, 1977) para su solubilización. Tras administración intramuscular se produce precipitación del fármaco a causa de la disminución del pH en la zona de inyección y atrapamiento iónico por el tejido adyacente (Cummings & Nordby, 1966), lo que retarda la absorción y reduce la biodisponibilidad. (Sullivan & Snow, 1982). En caballos, la extravasación en la administración intravenosa puede dar problemas como escaras, abscesos o flebitis (McKellar, 1995).

3. Al igual que otros AINE [p.e., ibuprofeno (Scherkel & Frey, 1987) o naproxeno (Zech y cols., 1993)] la FBZ a las concentraciones terapéuticas se une extensamente (>98%) a las proteínas plasmáticas y tisulares (Burns y cols., 1953; Tobin y cols., 1986), principalmente a la albúmina. A concentraciones superiores decrece el porcentaje de unión. El porcentaje de unión es del 87% para la OFBZ (Puyt y cols., 1992). Pese a que el plasma contiene diferentes proteínas, los fármacos ácidos, como es el caso de los AINE, y en concreto la FBZ, se unen principalmente a la fracción de la albúmina (Brodie, 1966).

4. Bajo volumen de distribución. Debido a su elevado grado de ionización plasmática y a su elevado grado de unión a la albúmina plasmática (superior al 80%), los AINE tienen una distribución limitada ($V_d < 0,3$ l/kg) (Baggot, 2001); oscila entre (l/kg en todos los casos) 0,14-0,25 en el caballo (Tobin y cols., 1986; Semrad y cols., 1993), 0,13-0,18 en la vaca (De Veau y cols., 1998) y 0,18 para el caso del perro (Mills y cols., 1995).

Ya desde las primeras publicaciones sobre FBZ es conocido el hecho de que sus concentraciones plasmáticas son apreciablemente superiores a las encontradas en tejidos orgánicos (Burns y cols., 1953). En un elevado porcentaje de pacientes humanos las concentraciones tisulares representaban del 55 al 80% de las halladas en plasma (Farr & Willis, 1977). Tras su administración, las concentraciones tisulares y plasmáticas disminuyen paralelamente. Sin embargo, la fenilbutazona se une fuertemente al músculo (Fichtl & Kurz, 1978) y a las vísceras (Gillette y cols., 1972), y las concentraciones de fármaco en estos tejidos no se corresponden necesariamente con la concentración en suero (Toutain y cols., 1980a y b).

La duración de la acción inflamatoria es mayor de lo esperable de acuerdo con los niveles plasmáticos observados, por la acumulación en tejidos inflamados y elevadas concentraciones en exudado en la mayoría de las especies domésticas. La liposolubilidad de las pirazolonas facilita el alcance de concentraciones más elevadas y sostenidas en los tejidos inflamados de lo que cabría esperar. Este fenómeno se atribuye a la extravasación de proteínas que se produce en la inflamación y al cambio de permeabilidad de membranas (Clarke y cols., 1989; Guthrie y cols., 1996) así como a la disminución de pH intracelular que propicia la retención del fármaco en dicho espacio (Brune & Graf, 1977). La unión de FBZ a las proteínas tisulares puede resultar en detección de residuos de fármaco hasta dos semanas después de la interrupción de la terapia.

Las bajas concentraciones encontradas en leche y saliva en yeguas (Crisman y cols., 1989) se explican por la extensa unión a proteínas. Sin embargo, la FBZ y OFBZ se encontraron en cantidades apreciables en la placenta de yeguas (Crisman y cols., 1991). Más recientemente De Veau y cols. (1998) demostraron que el paso a leche se llevaría a cabo mediante transporte activo, dado que las concentraciones halladas son superiores a las que por simple difusión pudieran encontrarse. Tienen FBZ y OFBZ facilidad para introducirse en el líquido sinovial de las articulaciones inflamadas debido a los cambios vasculares derivados del proceso (Wallis & Simkin, 1983; Brune y cols., 1975).

No hay que olvidar, por último, un factor cronobiológico, pues la

fracción libre de fármaco previamente unido a las proteínas plasmáticas aumenta durante la noche, de modo que se facilita el paso a través de membranas (Bruguerolle & Lemmer, 1993; Belanger y cols., 1982).

5. Extensa metabolización hepática, principalmente a través de oxidación y conjugación con el ácido glucurónico (glucuronidación), si bien en plasma equino y otras especies domésticas no se ha encontrado presencia de metabolitos. También intervienen otras enzimas plasmáticas, esterasas, etc.

La ruta metabólica de la FBZ se encuentra ampliamente descrita (von Rechenberg, 1966; Lees y cols., 1987). Mediante metabolización hepática (hidroxilación aromática) se transforma principalmente en OFBZ. Otros productos resultado de la metabolización son la γ -hidroxifenilbutazona (γ -HFBZ) y la ρ,γ -dihidroxifenilbutazona, amén de derivados glucurónidos de todas estas moléculas. El metabolito γ -HFBZ existe bajo dos formas intercambiables: lactona y cadena recta, pasando la primera a la segunda en solución lentamente (Von Rechenberg, 1966) La presencia de una u otra podría influir sobre la concentración del compuesto madre.

La variación en el metabolismo entre las diversas especies proviene de dos factores, íntimamente relacionados entre sí: patrones y enzimas metabolizadoras diferentes.

6. Metabolitos activos. La FBZ constituye excepción, pues todos los inhibidores de la ciclooxigenasa que se utilizan en la práctica veterinaria se degradan o se conjugan a metabolitos inactivos, mientras que los metabolitos originados a partir de esta pirazolona son activos. La OFBZ, metabolito que también presenta actividad terapéutica, en el que la presencia de un hidroxilo fenólico suprime casi toda la actividad analgésica, potencia el efecto antipirético e iguala la actividad antiinflamatoria con respecto a la FBZ. En suma, la OFBZ posee características similares (bajo volumen de distribución, usos terapéuticos, interacciones, porcentaje de unión a proteínas, etc.) a la FBZ. Además, la OFBZ incrementa la vida media de la FBZ (Tobin y cols., 1977), pues inhibe su metabolismo. La OFBZ fundamentalmente se elimina por O-glucuronidación. La concentración plasmática de OFBZ es aproximadamente un 10% de la concentración de FBZ a dosis terapéutica; dosis repetidas más altas pueden alcanzar una proporción de hasta un 25% de OFBZ respecto a la FBZ.

7. Excreción renal pH-dependiente. Al igual que en el resto de AINE, la eliminación renal suele depender del pH urinario; se excreta más rápidamente en la orina de tipo alcalino que en las ácidas. Sólo una pequeña

porción del compuesto original se elimina inalterada por la orina: para la especie humana, tan sólo un 1% de la dosis es excretada sin modificaciones a través de los riñones (Dieterle y cols., 1976; Aarbakke y cols., 1977), mientras que en el caso del caballo, menos del 2% es eliminada por la orina como FBZ durante 24 horas (Maylin, 1974; Lees y cols., 1983). Puede detectarse FBZ en la orina de caballo durante varios días después de la última dosis de un curso de tratamiento. Hacia el 24% de la dosis i.v. de FBZ se elimina en las 24 horas postadministración como uno de los tres metabolitos principales, pudiendo también hallarse la OFBZ en orina de caballo varios días tras la última dosificación.

Aproximadamente un 10% de FBZ y sus metabolitos se excretan por bilis, con o sin reabsorción posterior. El 37 y 40% de las dosis administradas i.v. y p.o. fueron detectadas en heces (Smith y cols., 1985).

La fenilbutazona atraviesa la placenta (Crisman y cols., 1991; de Veau y cols., 1998) y es excretada por leche, si bien en un porcentaje muy bajo de la dosis administrada (0,33%) (De Veau y cols., 1998).

A excepción del hombre y los rumiantes, la semivida de eliminación suele ser corta; el porcentaje de biotransformación hepática y la excreción renal y biliar condicionan el valor de este parámetro. La variabilidad aludida para el valor de este parámetro fue recogida en varias especies (Burns y cols., 1953; Herrman, 1959; Domenjoz, 1960; Anton, 1961): las semividas de perro y caballo son, respectivamente, de 6 y 3,5-7 horas, mientras que, como ya hemos comentado, para el hombre y los rumiantes (Arifah & Lees, 2002) los valores resultan prolongados.

En el perro no existe correlación directa entre pKa y semivida. Ésta depende de factores tales como coeficiente de partición lípido/tampón (K_p), porcentaje de unión a proteínas plasmáticas, distribución tisular y actividad de la enzima metabolizadora del compuesto. Escapa a esta hipótesis un análogo butil-terciario de la OFBZ (pKa=7,1), cuya excreción tiene lugar como glucurónido. Los valores de pKa de los glucurónidos se encuentran próximos a 3, lo que parece justificar la corta vida media de dicho compuesto.

II.3.3.2. Factores modificantes

Las propiedades fisicoquímicas de la FBZ y compuestos afines se suman a las diferencias entre especies con respecto a la disposición fisiológica, de manera que las últimas deben de considerarse a la hora de comprender el comportamiento de los AINE en general.

II.3.3.2.1. Especie de destino

Atendiendo a la especie doméstica de destino existen notables diferencias de diversa índole (anatómicas, fisiológicas, bioquímicas,...), con repercusión farmacológica. Así, las especies poseen una amplia variedad de regímenes alimenticios y ello trae como consecuencia patentes diferencias de tránsito, fermentación, pH del tracto gastrointestinal, etc. (San Andrés y cols., 2003). De este modo, el compuesto puede no ver modificado su comportamiento por el alimento, o bien ser absorbido con retraso o adelanto, en mayor o menor cantidad no existir influencia en su comportamiento, etc.

Diferentes trabajos trataron de determinar si la FBZ se veía influenciada por la pauta alimenticia. En general, la presencia de alimento retarda la absorción de FBZ mientras que el ayuno la disminuye. Mientras algunos estudios se centraron en la relevancia del ayuno (Sullivan & Snow, 1982; Bogan y cols., 1984) otros modificaron el horario de alimentación (Maitho y cols., 1986). En otros casos, cómo el ayuno y la pauta alimenticia conjuntamente condicionaban la biodisponibilidad (Rose y cols., 1982) o bien influían sobre la formulación del fármaco (Lees y cols., 1986a y b). La biodisponibilidad se veía modificada en presencia/ausencia (69/78%) de alimento, pero no según la hora de administración a lo largo del día (72/71%, mañana/tarde) (Maitho y cols., 1986).

Dentro de la fase de distribución, el hecho diferencial más notable alude a la variable composición y proporciones corporales. Sin embargo, existe homogeneidad dentro de los valores hallados para el volumen de distribución de la FBZ entre las distintas especies domésticas (ver II.3.3.1).

Dentro de los procesos de distribución plasmática, existe una enorme variación entre especies en cuanto al porcentaje de unión fármaco-proteína de transporte. Obedece este fenómeno a las diferencias existentes entre las distintas especies domésticas en composición, concentración y estructura de estas proteínas.

Estudios posteriores llegaron a la conclusión de que la albúmina de rata poseía dos sitios de unión para la FBZ, en tanto que en los casos del plasma

de perro y conejo tan sólo se halló un único sitio (Chignell & Starkweather, 1971).

Con respecto al metabolismo, ciertas particularidades de la especie aluden a vías, fases, ritmos y especies concretas (San Andrés y cols., 2003). Como ya se ha constatado, si bien la mayoría del compuesto madre es extensamente metabolizado en el hígado, los derivados glucurónidos de la FBZ no fueron hallados en todas las especies (ver II.3.3.1.).

Por último, tampoco para la excreción de la FBZ existe uniformidad entre las especies estudiadas con respecto al comportamiento de la misma (ver II.3.3.1.).

II.3.3.2.2. Factores fisiológicos: Edad y sexo.

La edad puede afectar a la cinética de ciertos fármacos. El porcentaje de agua/grasa corporal fluctúa con la edad, al igual que la proporción de los diferentes órganos con respecto a la totalidad del organismo (San Andrés y cols., 2003). Con respecto al metabolismo, la funcionalidad hepática se encuentra disminuida a edades tempranas, y comprometida en las avanzadas: uno de los mecanismos que con la edad puede verse alterado es el de la glucuronidación (Jack, 1985). Así mismo, también en animales viejos se compromete el rendimiento renal.

Tanto en caballos como en cabras y vacas ha sido demostrada la trascendencia de la edad en la evolución de la FBZ en el organismo. Para el caballo, destacar los estudios de Crisman y cols. (1991) y Wilcke y cols. (1993) en los que el volumen de distribución y la semivida fueron mayores, en tanto que el aclaramiento descendió para animales que no alcanzaban las 24 h de vida. Lees y cols. (1985) administraron idéntica dosis de FBZ (4,4 mg/kg i.v y p.o.) a dos grupos (n=3) de *Welsh Mountain ponies* que diferían en edad y peso –los animales de mayor edad presentaban también mayor peso-. Los datos mostraron que los animales jóvenes depuraban el plasma con el doble de rapidez que los de más edad (fueron mayores los valores de biodisponibilidad, aclaramiento y volumen de distribución, con una semivida de eliminación más breve en los animales jóvenes). En cuanto a las concentraciones, para la administración i.v., los valores fueron siempre superiores en los animales de más edad y la concentración máxima también fue alcanzada antes por los animales mayores (4 horas) que por los jóvenes (8 horas).

Por su parte, Eltom y cols. (1993) diseñaron un experimento expresamente encaminado a discernir en qué grado la edad modificaba el comportamiento farmacocinético de la FBZ en cabras. La FBZ presenta una

cinética dependiente de la edad en animales de 1, 3 y 6 meses (Volner y cols., 1990) y recién nacidos (Semrad y cols., 1993b).

Con respecto al sexo, es preciso aludir al hecho de que fisiológicamente las hembras atraviesan conocidos períodos (celo, gestación o lactancia) en los que actividad y disposición farmacológicas pueden verse alteradas. Sin olvidar que el metabolismo basal se sitúa alrededor de un 7% más bajo que para los machos.

Varios experimentos trataron de discernir, directa o indirectamente, en qué grado influía el sexo en el comportamiento cinético de la FBZ. Otros trabajos, si bien no estaban diseñados para discriminar la influencia de este factor, permiten inferir las mismas conclusiones sobre las diferencias entre sexos al comparar los resultados. Para la especie canina, Mills y cols. (1995), mencionan que las posibles diferencias en los valores urinarios y plasmáticos de FBZ parecen no estar ligadas al sexo. En la cabra, por otro lado, no se hallaron diferencias significativas entre sexos (Boulos, 1972). Tampoco el ganado vacuno parece presentar diferencias en cuanto al comportamiento de la FBZ entre machos y hembras al comparar los valores de los distintos estudios entre sí, pese a que puedan existir variaciones achacables a otros factores que desvirtúen esa conclusión (Arifah & Lees, 2002). Por último, en el caballo, los numerosos trabajos efectuados no apuntan diferencias entre sexos (Piperno y cols., 1968; Crisman y cols., 1991; Semrad y cols., 1993a; Jaráiz y cols., 1999a y b).

II.3.3.2.3. *Factores patológicos*

La aplicación de los fármacos resulta de la búsqueda del cese de actividad del agente patógeno. A ello hay que añadir la necesidad de paliar uno o varios síntomas de manifestación de una enfermedad y atender a las consecuencias que la activación de los mecanismos de defensa en el organismo trae consigo. Por ejemplo, una fiebre o una diarrea acusadas conducirán, en ciertos casos, a estados severos de deshidratación que pueden modificar sustancialmente el comportamiento cinético del fármaco. El grado de ionización de los fármacos puede verse alterado por el pH del medio, por lo que cambios en el mismo provocados por alcalosis o acidosis metabólica alteran la excreción o distribución de los mismos (Levine & Clark, 1982). Por otra parte, ciertas patologías afectan casi exclusivamente a un solo órgano, lo que reduce la amplitud de posibilidades terapéuticas.

Gracias a su liposolubilidad las pirazolonas alcanzan concentraciones mayores y durante más tiempo en tejidos inflamados y exudado (ver II.3.3.1.).

Se compararon los valores de los parámetros cinéticos de la FBZ entre animales sanos con animales a los que se indujo un cuadro de fiebre (Mills y cols., 1995), no advirtiéndose diferencias significativas entre ambos grupos. El mismo grupo de trabajo sí hallaría más tarde (1996) diferencias al inducir un cuadro de inflamación en caballos. La inducción de un fallo renal, al modificar la eliminación, trajo como consecuencia la variación de los parámetros cinéticos de la FBZ en el conejo (Belpaire y cols., 1977; Van Peer y cols., 1978).

II.3.3.2.4. *Interacciones farmacológicas*

Las consecuencias de las interacciones entre fármacos pueden ser abordadas desde un punto de vista farmacocinético o farmacodinámico. Para los AINE, en la mayoría de los casos obedecen a modificaciones del primer tipo.

A grandes rasgos, desde un punto de vista cinético, las interacciones de los AINE con otros fármacos obedecen a tres patrones. Un primer grupo incluiría las interacciones entre AINE, uno de cuyos efectos es el incremento de la toxicidad en administración conjunta; un segundo sería consecuencia de la modificación de la actividad provocada por el AINE sobre un tercer compuesto, mientras que el último patrón incluiría fármacos cuya acción variase la cinética del AINE (Verbeeck, 1990; Brouwers y cols., 1994). Las interacciones con otros compuestos pueden tener lugar a través del desplazamiento de éstos en su unión a las proteínas plasmáticas por la FBZ.

Entre los fármacos cuya acción modifica el comportamiento farmacocinético de la FBZ cabe citar las hormonas esteroideas, que pueden incrementar la concentración del principal metabolito, la OFBZ (Gupta y cols., 1982) o inductores enzimáticos (fenobarbital, fenitoína, rifampicina) que aumentarían la eliminación de la FBZ (Verbeeck, 1990).

De entre los efectos que la interacción de la FBZ con otros fármacos provoca cabe citar: a) Potenciación de la acción de los anticoagulantes como la warfarina y los agentes hipoglucemiantes orales (Pond y cols., 1977); b) Incremento de la toxicidad del metrotexato (Gabrielli y cols., 1987) al reducir su aclaramiento renal y desplazándolo de su unión a las proteínas plasmáticas; c) Inhibición del metabolismo de la fenitoína (Zweers-Zeilmaker y cols., 1997) y de la tolbutamida; d) Reducción del efecto hipotensor de los β -bloqueantes.

Los fármacos ácidos compiten por un limitado número de sitios de unión en la albúmina plasmática, por lo que la administración de un segundo compuesto puede suponer variaciones, con desplazamientos de los sitios de

unión que determinen diferencias en las interacciones entre fármacos (Imamura y cols., 1986; Imamura y cols., 1989).

II.3.3.3. Particularidades farmacocinéticas por especies

II.3.3.3.1. *Caballo*

Pese a la aparición de nuevos productos en el mercado, las propiedades de la FBZ siguen haciendo de este fármaco una utilísima herramienta en la clínica de équidos, imprescindible en la lucha contra la tumefacción y el dolor. Su uso, no obstante, abarca un amplísimo espectro de aplicaciones, entre las que cabe destacar los procesos relacionados con tejidos blandos, y, sobre todo, las lesiones del aparato locomotor (Mayós, 2002). A pesar de que a dosis elevadas existe acumulación de FBZ (Gerring & Lees, 1981) puede considerarse a la FBZ un fármaco seguro en el caballo, pues aunque en esta especie las dosis administradas a lo largo de los años deben ser astronómicas, las referencias sobre efectos secundarios son escasas (Tobin, 1979).

No se pueden obviar las consecuencias que del uso del fármaco pueden derivarse en animales destinados a competición. Los tratamientos se encuentran absolutamente prohibidos por los reglamentos, pues a partir de ciertos niveles de fármaco en sangre y/u orina existe penalización. Klaus & Hapke (1994) recopilaron los datos farmacocinéticos de ciertos antiinflamatorios/analgésicos con efectos sobre el *doping*. En este sentido, Jaussaud y cols. (1985) indicaron que no existía relación alguna entre tiempo de inyección y semivida y tiempo preciso para alcanzar el nivel penalizado en muestras para la FBZ (4 µg/ml).

Desde los primeros trabajos [Piperno y cols. (1968) y Gandal y cols. (1968)], el comportamiento cinético de la FBZ en caballos ha sido estudiado por diferentes autores a través de distintas vías (i.v., i.m., p.o.), ajustándose los datos a modelos mono y bicompartimental abiertos (Soma y cols., 1983; Landuyt y cols., 1993).

Por vía oral, la biodisponibilidad de la FBZ oscila entre 55,1-96,7% (Keller & Hashem, 1996); otros autores la sitúan en torno al 91% (Soma y cols., 1983; Smith y cols., 1987) mientras que Lees y cols. (1985) hallaron valores del 77%. Existe una estrecha relación entre pauta de alimentación y biodisponibilidad (ver II.3.3.2.1.). Por vía i.m., Landuyt y cols. (1993) calcularon una biodisponibilidad de 91,7%.

Tras administración p.o. la absorción tiene lugar a nivel gastrointestinal (Jeffcott & Coles, 1977; Tobin y cols., 1986) y la concentración plasmática alcanza su máximo a las 2 horas (6 para la vía intramuscular)(Barragry, 1973).

Ya dentro del torrente circulatorio, tanto el compuesto patrón como los metabolitos están fuertemente ligados a las proteínas plasmáticas, con un porcentaje mínimo de unión que oscila entre el 96-98% para la FBZ y 87% la OFBZ, respectivamente (Gandal y cols., 1968; Gerring y cols., 1981). Por su parte, Maitho y cols. (1986) fueron incapaces de hallar FBZ libre a concentraciones totales inferiores a 27 µg/ml, detectando únicamente un 0,5% libre tras la primera hora post-administración a una dosis de 4,4 mg/kg. Lambert & Kelly (1978) obtuvieron resultados semejantes y además propusieron 4 lugares de unión de fuerte afinidad y sólo 1,5 de baja afinidad en la albúmina sérica.

El volumen de distribución obtenido tras administración vía i.v. por distintos autores no difería significativamente: oscilaba, para dosis únicas, entre 0,14-0,25 (l/kg) (Jenny y cols., 1979; Rose y cols., 1982; Lees y cols., 1985; Maitho y cols., 1986; Lees y cols., 1987; Landuyt y cols., 1993 Semrad y cols., 1993a). Valores semejantes (0,15 l/kg) fueron encontrados tras dosis múltiples conjugando vía oral e i.v. (Soma y cols., 1983).

La FBZ es metabolizada principalmente en el hígado, por el sistema microsomal (Gerring y cols., 1981; MacAllister, 1994). Los metabolitos identificados son la oxifenbutazona (OFBZ) (metabolito activo), γ -hidroxifenilbutazona y γ -hidroxioxifenilbutazona (metabolitos inactivos). Tanto la OFBZ como la γ -hidroxifenilbutazona se unen fuertemente a proteínas plasmáticas. Tras administración de dosis únicas de FBZ p.o. a 6 grupos de caballos (1,1; 2,2; 4,4; 6,6; 8,8 y 13,2 mg/kg) sólo en un tercio de las muestras plasmáticas se detectó γ -hidroxifenilbutazona, con una concentración máxima de 0,7 µg/ml; con respecto a la OFBZ, pese a ser más elevados sus niveles plasmáticos, no sobrepasaron en ningún caso el 10% de la concentración de FBZ, siendo los valores máximos de ésta última de 27 µg/ml (Gerring y cols., 1981).

Tras administración i.v. de FBZ, OFBZ y OHFBZ eran detectables en plasma durante 72 y 48 h respectivamente, y pasadas 36 h, la concentración plasmática de OFBZ superaba la de FBZ; para la vía i.m. los metabolitos hidroxilados alcanzaban valores cuantificables pasadas 72 h, y la OFBZ presentaba mayor concentración que la FBZ a las 72 h (Landuyt y cols., 1993).

El comportamiento farmacocinético y la distribución de la OFBZ,

administrada directamente, también han sido estudiados (Lees y cols., 1986b; Gerken & Sams, 1988). Las concentraciones medias de OFBZ en todos los fluidos fueron siempre menores que las de FBZ, pero existía una rápida penetración del metabolito en los fluidos corporales, especialmente en el exudado inflamatorio, lo cual parece sugerir su contribución al efecto antiinflamatorio (Lees y cols., 1986b).

La semivida de eliminación plasmática de la FBZ es dosis-dependiente, y oscila entre 3,5-7,1 h. (Landuyt y cols., 1993; MacAllister, 1994), si bien con mayor frecuencia el intervalo de valores se sitúa entre 3 y 6 h (Piperno y cols., 1968; Maylin, 1974; Lehman y cols., 1981; Rose y cols., 1982; Lees y cols., 1986a; Lees y cols., 1987; Keller & Hashem, 1996). Piperno y cols. (1968) comprobaron que tras administración intravenosa de 4,4 y 8,8 mg/kg la semivida resultó ser de 3,5 horas, pero cuando esa misma administración se elevaba a 13,2 mg/kg la semivida alcanzó las 6 h; Gerring y cols. (1981) hallaron valores de semivida de 3,5 y 6 horas para dosis de 4,4 y 17,8 mg/kg respectivamente. Es decir, los niveles plasmáticos de FBZ no se incrementaban proporcionalmente a la dosis (cinética no lineal). Gandal y cols. (1968) administraron a *poneys* y caballos distintas dosis de FBZ y OFBZ y hallaron que la semivida de ambos compuestos era muy similar, independientemente del peso del animal y dosis del fármaco.

El aclaramiento en las diferentes publicaciones para la cinética endovenosa de FBZ en caballos se sitúa en torno a valores de 18-30 ml/h kg (Lees y cols., 1985; Maitho y cols., 1986; Lees y cols., 1987; Landuyt y cols., 1993; Semrad y cols., 1993a).

Si nos atenemos al elevado grado de unión a proteínas plasmáticas de la FBZ, ni la concentración plasmática de FBZ se ve afectada ni la cantidad de la misma que accede por filtración glomerular a la orina queda enormemente limitada, independientemente del pH urinario (Houston y cols., 1985). De hecho, la semivida de la FBZ en el plasma equino con orinas ácidas (pH=5,2) y alcalinas (pH=8,3) no se veía afectada (Piperno y cols., 1968). Su eliminación es principalmente a través de orina y en menor proporción por saliva y leche, en forma conjugada o no biotransformada (Gerring y cols., 1981). Para otros autores, en la excreción urinaria de la FBZ y sus metabolitos, prácticamente no existe secreción tubular de FBZ y su eliminación urinaria en forma de metabolitos obedece a la biotransformación sufrida por el compuesto patrón.

Maylin (1974) determinó las concentraciones de FBZ y sus metabolitos en plasma y orina tras administrar el compuesto durante 4 días en dosis única (4,4 mg/kg i.v.) y halló que la excreción urinaria de FBZ osciló entre

0,9-2,1%. En conjunto (la FBZ junto a OFBZ y el metabolito alcohólico), la excreción urinaria supuso un 18,6-25,8% en las 24 primeras horas, con un 6,3% adicional hasta las 48 h. Finocchio y cols. (1970) hallaron FBZ en orina pasadas 48 h. de la administración, pero tan sólo en un 30% de los casos fue detectada la OFBZ. Por otra parte, el pH urinario (ácido) prolongaba la excreción de FBZ y sus metabolitos (Moss & Haywood, 1973). De acuerdo con los resultados de su estudio Lees y cols. (1987), concluían que el destino de al menos el 50% de la dosis administrada se desconocía. Sugerían que antes que la improbable formación de nuevos metabolitos (Smith y cols., 1985) era más probable que una elevada proporción del fármaco accediera al tracto gastrointestinal, ya fuera como FBZ o como metabolito, con una eventual excreción fecal. Las vías posibles serían una secreción activa en fluidos como la bilis o una simple difusión pasiva. Más tarde, Smith y cols. (1987) también sugerían que existía, a partir de sus datos, evidencia de excreción biliar, de acuerdo con los bajos porcentajes de recuperación obtenidos de FBZ y sus metabolitos por los autores que sólo recolectaron orina.

Existen, por otra parte, una serie de factores que pueden llegar a modificar el comportamiento de la FBZ en los caballos (edad, sexo, régimen y pauta de alimentación, etc.), ya abordados con anterioridad (ver II.3.3.2.). De entre los no tratados, mientras la forma farmacéutica parece tener su importancia de acuerdo con los trabajos de Keller & Hashem (1996) y Lees y cols. (1986a), no sucede así con el ritmo circadiano (Jaussaud y cols. 1985; Maitho y cols., 1986).

Dado el frecuente empleo de la FBZ con otros fármacos se desarrollaron numerosos estudios encaminados a dilucidar las ventajas de esta pirazolona frente a otros AINE (Johnson y cols., 1993; McAllister y cols., 1993) o bien a discernir el efecto de la administración previa, conjunta o consecutiva de aquélla con otros principios activos. Por ejemplo, en la administración concurrente de FBZ y flunixin-meglumine las variables farmacocinéticas no resultaron modificadas. Ni la disposición ni el aclaramiento se vieron alterados, pese a que la combinación prolongaba el efecto farmacológico (Semrad y cols., 1993a). La posible interacción era con mayor frecuencia investigada en otros AINE, de entre los que destacan el ya aludido flunixin-meglumine y el ketoprofeno (Owens y cols., 1995; Owens y cols., 1996), fármacos con acción sobre el sistema renal [furosemida (Stevenson y cols., 1990; Olsen y cols., 1992; Aguilera-Tejero y cols., 1993; Hinchcliff y cols., 1995); probenecid (Zertuche y cols., 1992)] o antibióticos [gentamicina (Whittem y cols., 1996), penicilina G (Firth y cols., 1990; Clarke y cols., 1992), rifampicina, (Burrows y cols., 1992) etc.] e incluso anestésicos (Young y cols., 1994).

Mills y cols. (1996) valoraron el efecto de la inflamación inducida experimentalmente mediante el adyuvante de Freund en la disposición de la FBZ en caballos. Ni la cinética plasmática ni la excreción urinaria de la FBZ y sus metabolitos parecieron modificarse a una dosis de 8,8 mg/kg de la propia FBZ por vía i.v. No obstante, hallaron ligeros incrementos en los valores de aclaramiento corporal total y volumen de distribución (por área y *steady-state*) a dosis inferiores (4,4 mg/kg), con un notable incremento tras 18 horas post-administración de los valores de OFBZ en orina.

De hecho, este metabolito activo, *colabora* con la FBZ en la consecución de sus efectos a través de distintas vías (Tobin y cols., 1977), explicando, entre otros aspectos, la prolongada acción de la FBZ (Lees y cols., 1986b). Gerken & Sams (1988) llevaron a cabo su estudio administrando por vía i.v. dos dosis distintas de OFBZ (1,1 y 4,4 mg/kg) a un grupo de yeguas. Comparando los resultados entre sí, existía un descenso de un 40% en los valores de semivida y V_{ss} para la dosis inferior, no modificándose el aclaramiento plasmático ni el MRT. Con respecto a los resultados obtenidos por otros autores, la dificultad surge por la diferencia en la dosis manejada. Los datos reflejan que V_{ss} es dosis-dependiente en el caballo, mientras que queda por dilucidar si sucede lo mismo con el Cl.

II.3.3.3.2. Burro

En la actualidad, el asno es considerado una especie menor en términos de estudios farmacológicos. En contraste con el caballo, existe una notoria escasez de información acerca de la disposición de los fármacos en dicha especie (Oukessou & Alsouss, 1998). En consecuencia, a menudo, para la aplicación de un tratamiento, o bien se parte de principios médicos básicos, o bien los regímenes de dosificación, basándose en una supuesta proximidad zoológica, asumen que son pequeños caballos (Fowler, 1989) de los que se extrapolan datos disponibles previos. Clásicamente, han sido escasos los trabajos dedicados a la fisiología, patología o terapéutica en el burro que permitieran confirmar que los modos de proceder descritos eran adecuados. No obstante, la mayor atención que en los últimos tiempos se dedica al asno ha propiciado que se incremente el conocimiento de este animal, sobre todo a partir de la década de los noventa.

Los estudios que en fechas recientes se han llevado a cabo se han centrado, sobre todo, en principios activos contra agentes infecciosos (bencilpenicilina, amoxicilina, amikacina, sulfamidas, trimetoprim, norfloxacin, gentamicina, etc.). Tanto con estos fármacos como con otros se han demostrado, al comparar ambas especies, diferencias significativas en la cinética y la dinámica (Horspool & McKellar, 1990; Horspool y cols., 1992;

Matthews y cols., 1994; Cheng y cols., 1996; Oukessou y cols., 1996) y, en algunas ocasiones, en los efectos clínicos (Matthews y cols., 1992; Matthews y cols., 1994; Matthews y cols., 1997). Sin embargo, para otras sustancias no fueron observadas diferencias significativas en los parámetros de caballos y burros (gentamicina, Welfare y cols., 1996; amoxicilina, Lavy y cols., 1995a). Incluso se ha sugerido que el burro podría servir como modelo útil en estudios farmacológicos previos para el empleo de nuevos fármacos en el caballo (Lavy y cols., 1994 y 1995b).

Hasta fechas recientes no aparecieron los primeros datos sobre el comportamiento farmacocinético de los AINE en esta especie (ketoprofeno: Oukessou y cols., 1996; flunixin-meglumine: Coakley y cols., 1999) y de la FBZ en particular (Cheng y cols., 1996; Mealey y cols., 1997; Matthews y cols., 2001). Para esta última, en los tres casos la dosis fue idéntica, 4,4 mg/kg administrados por vía intravenosa. Cronológicamente, en el primer trabajo sobre FBZ se concluía que tras administración intravenosa de FBZ (4,4 mg/kg) el comportamiento farmacocinético y farmacodinámico de este fármaco en burros difería enormemente del descrito en caballos, al igual que harían los dos estudios posteriores. Mientras los valores de Mealey y cols. (1997) se situaron entre los de los dos estudios en esta especie, Matthews y cols. (2001) llevaron a cabo su estudio en burros miniatura, cuyo peso medio es menor a la mitad del peso de los animales empleados anteriormente, lo que condicionó los resultados de los parámetros obtenidos.

Cheng y cols. (1996) observaron cómo los niveles plasmáticos decrecían rápidamente, no detectándose el fármaco tras 24 horas. La concentración máxima (C_{max}) de OFBZ tenía lugar hacia la media hora aproximadamente, mientras que en el siguiente trabajo se alcanzaba el pico de concentración plasmática antes que en caballos (1,6 y 6,4 h., respectivamente) (Mealey y cols., 1997). Por su parte, en el trabajo de Matthews y cols. (2001), la OFBZ aparecía rápidamente en el suero, también en torno a la media hora, con un pico de concentración plasmática con un valor medio 3,5 µg/ml.

El volumen de distribución (V_{ss}) en el estado estacionario era bajo para la FBZ, y oscilaba entre 147-241 ml/kg (Cheng y cols., 1996; Mealey y cols., 1997). El mismo parámetro (V_{ss}) resultó mayor en burros miniatura [(545 ml/kg) (Matthews y cols., 2001)], y menor el valor hallado para caballos (173,6 ml/kg) en el trabajo de Mealey y cols. (1997).

La FBZ sufre una extensa metabolización hepática, de ahí que los autores sugieran que los burros poseen una ruta metabólica de eliminación de la FBZ más efectiva, comparada con los caballos, al tiempo que la

conversión metabólica de FBZ a OFBZ sea también más rápida en los primeros (Cheng y cols., 1996; Mealey y cols., 1997). Los índices AUC OFBZ:AUC FBZ eran superiores en burros (67%) que en ponies (8%), de donde parece deducirse que la hidroxilación aromática tiene lugar más rápidamente en el burro y explicarse la más corta semivida de FBZ, pese a que también es posible que la OFBZ se elimine más lentamente en burros que en caballos (Cheng y cols., 1996). El valor de AUC de 757 ($\mu\text{g}/\text{ml}\cdot\text{min}$) fue hallado en burros miniatura (Matthews y cols., 2001).

La rápida eliminación de plasma de FBZ y de su principal metabolito, la OFBZ, queda reflejada en las cortas semividas de eliminación de ambas ($t_{1/2\beta}$ FBZ: 0,63 h; $t_{1/2\beta}$ OFBZ: 1,81 h) (Cheng y cols., 1996). De hecho, la eliminación de FBZ en los burros resultó ser unas 10 veces más rápida que la registrada en *ponies* a iguales dosis y vía de administración (Lees y cols., 1986a y b; Maitho y cols., 1986).

Sin embargo, cuando se realizaba el estudio farmacocinético incluyendo la implantación de un modelo subcutáneo de inflamación, el fármaco quedaba retenido. Ello permitió constatar que tanto FBZ como OFBZ sufren una más lenta eliminación de exudado y trasudado que de plasma, lo que quedaba reflejado en sus valores más elevados frente a los plasmáticos, tanto de semivida como de MRT. En plasma, el MRT de la FBZ fue de entre 0,69-1,4 (h), mientras que en exudado y trasudado, los valores fueron de $10,17\pm 3,37$ y $10,87\pm 5,26$ respectivamente (Cheng y cols., 1996, Matthews y cols., 2001).

Mientras que en ponies se obtuvieron valores de Cl_B de 25-26 ($\text{ml}/\text{h}\cdot\text{kg}$) (Maitho y cols., 1986) y en caballos de $29,3\pm 4,64$ $\text{ml}/\text{kg}/\text{h}$ (Mealey y cols., 1997), los valores de aclaramiento (Cl_B) en burros oscilaron entre 170,3-214,2 $\text{ml}/\text{kg}/\text{h}$ (Cheng y cols., 1996; Mealey y cols., 1997). Finalmente, el valor del mismo parámetro en burros miniatura resultó ser de $360,0\pm 6,6$ ($\text{ml}/\text{kg}/\text{h}$) (Matthews y cols., 2001).

En conclusión, las diferencias encontradas en el comportamiento farmacocinético de la FBZ para ambas especies sugieren que las dosis para burros deberían ser más elevadas, y más cortos los intervalos de administración para mantener unos niveles terapéuticos adecuados de fármaco en plasma (Cheng y cols., 1996; Mealey y cols., 1997; Matthews y cols., 2001).

II.3.3.3.3. Oveja y cabra

Los AINE en general, y la FBZ en particular, son empleados con cierta asiduidad en rumiantes. Estudios experimentales e investigaciones clínicas sugerían su potencial utilidad y pese a que su uso no está autorizado, la FBZ es aplicada en este ganado para el tratamiento de numerosos procesos, como artritis, laminitis, fiebre, endotoxemia, enfermedades virales respiratorias, mastitis y otros desórdenes inflamatorios (Chand & Eyre, 1977; Heidrich & Roters, 1979; Backer y cols., 1980; Lees y cols., 1988; Cheng y cols., 1997).

El comportamiento farmacocinético de FBZ en cabras tras administración intravenosa ha sido estudiado por diversos autores con diferentes dosis (4,4, 10 y 33 mg/kg), obteniendo valores para los distintos parámetros que no diferían significativamente con el sexo y sí con la edad (Boulos y cols., 1972; Eltom y cols.; 1993; Cheng y cols., 1997). La distribución está limitada por una elevada unión a proteínas plasmáticas (60,3-99,5%, en función de los autores consultados y la concentración plasmática), por lo que los valores del volumen de distribución son pequeños (88-280 ml/kg) (Boulos y cols., 1972; Eltom y cols.; 1993; Cheng y cols., 1997) y no se modifican en función de la edad. Así, para animales de 1 día y adultos los valores de V_{ss} fueron, respectivamente, 0,38 y 0,27 (l/kg) (Eltom y cols., 1993).

La semivida de eliminación varía entre 14,5 y 19,0 h en cabras adultas; en animales jóvenes, existe una relación inversa entre $t_{1/2\beta}$ y edad, alcanzando valores de 120 horas en animales de 1-10 días. El aclaramiento plasmático de FBZ, debido tanto a la excreción como a la transformación en dos metabolitos principales (OFBZ y γ -OHFBZ), oscila entre 13 y 44,6 ml/kg/h en adultos (Boulos y cols., 1972; Eltom y cols.; 1993; Cheng y cols., 1997). En animales menores de 4 semanas los patrones de concentración de los metabolitos difieren y el valor del aclaramiento es menor (2 ml/kg/h en animales neonatos). Así, la OFBZ presenta concentraciones plasmáticas mayores en esta especie, sin diferencias por la edad; su $t_{1/2\beta}$ en adultos (22 h) es superior a la de FBZ y presenta picos de concentración plasmática a diferentes $t_{m\acute{a}x}$ en función de la edad (1,5 horas en adultos y 12 horas en cabras de 4 semanas). La γ -OHFBZ presenta un patrón de concentraciones plasmáticas mantenidas, similar en animales de todas las edades, pero de mayor valor en animales jóvenes que en adultos (Eltom y cols.; 1993; Cheng y cols. 1997).

Cuando la FBZ se administra en cabras por vía oral (4,4 mg/kg) su absorción es lenta ($t_{m\acute{a}x}=3,47$ h), pero con valores elevados de biodisponibilidad (61%), considerando las particularidades anatómo-fisiológicas de los rumiantes. El efecto del fármaco, medido sobre la

inhibición de la síntesis de TXB₂, se mantiene entre las 2-12 horas post-administración, de forma similar a lo que sucede tras administración intravenosa (intervalo de eficacia, 1-12 horas) (Cheng y cols., 1997).

Para la oveja los primeros estudios farmacocinéticos de FBZ son recientes (Cheng y cols., 1998) y han puesto de manifiesto el semejante comportamiento cinético al previamente descrito en cabras, con valores muy próximos de $t_{1/2\beta}$, Cl y V_{ss} (Boulos y cols., 1972; Eltom y cols., 1993; Cheng y cols., 1997). Tras administración de FBZ a dosis única (4,4 mg/kg) por vía intravenosa se constató que en ovejas la eliminación del fármaco del plasma era mucho más lenta que la del flunixin meglumine. Las curvas de concentración/tiempo se ajustaron al modelo tricompartmental en 5 animales, mientras que fue bicompartimental para otros 3. La distribución plasmática de la FBZ fue rápida en la primera fase, y mucho más lenta en la segunda. La eliminación fue muy lenta, reflejada en la semivida de eliminación ($t_{1/2\beta} = 17,92 \pm 1,74$ h), siendo detectables niveles de FBZ hasta 144 h post-administración en seis de los ocho animales empleados en el estudio. La disposición de la FBZ en esta especie se caracterizó por un valor prolongado del tiempo medio de residencia (MRT = $21,22 \pm 1,73$ h), un aclaramiento lento ($Cl_B = 4,56 \pm 0,53$ ml/kg.h) y un bajo volumen de distribución en el estado estacionario ($V_{ss} = 98,66 \pm 4,67$ ml/kg).

II.3.3.3.4. *Vaca*

La cinética de la FBZ en la vaca sigue un patrón no lineal (Boudinot y cols., 1990). Eberhardson y cols. (1979) demostraron que no existe una relación directa entre los valores del semivida y la dosis administrada (3-6 mg/kg), y, según los autores, en el ganado vacuno adulto, la curva de disposición de la FBZ administrada vía i.v. se ajusta a un modelo bicompartimental abierto (Semrad y cols., 1993b), si bien para otros autores obedecería al tricompartmental (Lees y cols., 1988).

La FBZ se absorbe bien tras administración intramuscular en el ganado bovino, con una biodisponibilidad próxima al 100%. Se trata de una vía segura (Fraser y cols., 1993). Eberhardson y cols. (1979) hallaron valores de biodisponibilidad del orden del 89% (vía i.m.), en tanto que el valor medio para De Backer y cols., (1980), del 67,5% era obtenido de un amplio intervalo de valores (41,9-95,5%), pero acorde con el valor de 66% de Arifah y Lees (2002).

La absorción por vía oral resulta lenta, con un primer pico de concentración entre las 7-10 h (Lees y cols., 1988; Williams y cols., 1990). No obstante, la absorción del tracto gastrointestinal resultó adecuada (Eberhardson y cols., 1979; DeBacker y cols., 1980; Lees y cols., 1988) con

un valor de biodisponibilidad de 69 y 67,5% (DeBacker y cols., 1980; Eberhardson y cols., 1979). En el rumen, a valores de pH que oscilan entre 5,5-7,2, predomina la forma ionizada, no difusible, de FBZ. Por ejemplo, a un pH ruminal de 6,5 la concentración de la forma ionizada será 100 veces mayor que la no ionizada (Williams y cols., 1990).

La limitada distribución extravascular parece deberse al elevado porcentaje de unión a proteínas plasmáticas, concentración-dependiente (Boudinot y cols., 1990), que oscila entre el 93 y el 98% para dosis de FBZ entre 4,4 y 6 mg/kg (Eberhardson y cols., 1979; Lees y cols., 1988; De Veau y cols., 1998, 2000).

Resultan por ello característicos los valores semejantes entre sí a los que los diferentes autores llegan para el volumen de distribución. Eberhardson y cols., (1980) hallaron volúmenes de distribución aparente similares (0,10 y 0,11 l/kg) para dosis de 6 y 3 mg/kg respectivamente. Estos valores coinciden con los encontrados en posteriores trabajos, con un intervalo de 0,08-0,14 (V_{β} , l/kg) (Toutain y cols., 1980a ; Lees y cols., 1988). No son sustancialmente diferentes los resultados cuando el volumen de distribución calculado es el del estado estacionario (V_{ss}) (l/kg): 0,134 (Williams y cols., 1990); 0,147 (De Veau y cols., 1998); 0,14 (De Veau y cols., 2002) y 0,09 (Arifah y Lees, 2002).

Toutain y cols. (1980a) administraron una dosis de 7,5 mg/kg i.v. de FBZ y practicaron biopsias musculares y hepáticas para obtener una primera aproximación a las concentraciones tisulares. A tiempos de sacrificio de 11 y 18 días encontraron concentraciones plasmáticas medias de FBZ de 1,97 $\mu\text{g/ml}$, hepáticas de 0,26 $\mu\text{g/ml}$ y musculares de 0,11 $\mu\text{g/ml}$. Los tiempos de eliminación media fueron de unas 56 horas (músculo e hígado). Las concentraciones tisulares descendieron en paralelo con las plasmáticas, si bien los valores eran inferiores. Preiss (1967) tras tratamiento con Tomanol® a dosis intravenosa única de 50 ml, halló el día 14 concentraciones en sangre de FBZ 1-2,2 ng/ml.

Tanto OFBZ como γ -OHFBZ fueron detectadas en plasma poco después de la administración de FBZ por rutas i.v., i.m. y p.o.; las concentraciones plasmáticas fueron bajas y se mantuvieron hasta las 72 h. La γ -OHFBZ siempre apareció antes, alcanzando antes también el pico máximo, pero su concentración fue inferior a la de OFBZ. Por vía urinaria los metabolitos eran detectables, independientemente de la vía de administración, hasta pasadas 168 h; la concentración urinaria de la OFBZ también resultaba ligeramente superior a la de γ -OFBZ (Lees y cols., 1988). Tras administración única de FBZ (7,5 mg/kg, i.v.) y sacrificio transcurridos

11 y 18 días el principal metabolito, la OFBZ, no fue detectado ni en plasma, ni tejido muscular ni en hígado (Toutain y cols., 1980a). Los metabolitos principales de la FBZ eran detectados, pero a concentraciones inferiores a 1 µg/ml, por debajo del 1% de la concentración plasmática de FBZ (Martin y cols., 1984).

Durante tratamientos con FBZ en régimen de dosis múltiples (5 mg/kg bid, p.o., 8 días) Martin y cols. (1984) identificaron tres fases en la curva de concentración plasmática: acumulación (días 1-5), mantenimiento (6-8) y eliminación (9-15); el valor de la semivida en plasma durante la última fase ($38,6 \pm 3,7$ h), es semejante al registrado por Eberhardson y cols. (1979). En cualquier caso, la concentración plasmática de FBZ durante la fase de *steady-state* era inferior a la pronosticada, probablemente debido al incremento del volumen de distribución y del aclaramiento. A concentraciones plasmáticas de 10-153 µg/ml, la fracción libre se incrementaba al hacerlo la concentración total del fármaco (0,22-2,2%).

Rasmussen (1966) demostró que, en general, la relación entre la concentración de fármacos en la fracción de leche baja en grasa y la concentración de fármaco no ligado en el plasma depende del pKa del fármaco ($FBZ=4,5$) y del pH de la leche y del plasma (respectivamente, 6,8 y 7,4). El valor calculado para dicha relación (C_{leche}/C_{plasma}) en el caso de la FBZ es de 0,25, algo menor que el hallado experimentalmente en la fase de *steady-state* por Martin y cols. (1984). El hallazgo de que el aclaramiento mamario de la FBZ aumenta proporcionalmente al incremento de la concentración plasmática parece relacionarse con la disminución del enlace a proteína a concentraciones altas en plasma. La representación gráfica de la velocidad de excreción frente a concentración de FBZ libre sugiere la saturación de un proceso de transporte mediado por un portador desde el plasma a la leche para este fármaco. La concentración plasmática mínima alcanzada en el experimento de Martin y cols. (1984) durante el estado estacionario fue de $100,4 \pm 7,3$ µg/ml; la concentración de FBZ en leche imitó, pero a concentraciones inferiores, el patrón en plasma; no sobrepasa el 1% de la plasmática (relación de concentraciones leche/plasma=0,006-0,009, días 5-9). El cuarto día después de la última administración la concentración de FBZ era inferior a 0,05 µg/ml. Dado que el porcentaje de unión a proteínas es elevado, los cambios que se originasen en la fracción libre afectarían con toda probabilidad al volumen de distribución y al nivel de fármaco en la leche (Martin y cols., 1984).

El ganado vacuno se distingue, de acuerdo con los numerosos trabajos sobre la cinética de FBZ en esta especie, por unos tiempos de semivida plasmática mucho más largos que los del resto de los animales domésticos,

debido a una más lenta eliminación de plasma. Es decir, bajos valores de aclaramiento que fluctuaron entre 1,24 y 3,2 (ml/kg/h) y semivida de eliminación prolongada, de valores extremos comprendidos entre 33,6 y 65,4 h (De Backer y cols., 1980; Toutain y cols., 1980a; De Veau y cols., 2002) para dosis que oscilaron entre 4,4-10 mg/kg.

Al igual que en cabras, los parámetros farmacocinéticos no dependen del sexo ni del estatus hormonal sexual en machos –castración- ni del estado de producción de las ubres de las hembras (Williams y cols., 1990; De Veau y cols., 1998; De Veau y cols., 2002). Sí varían con la edad: los valores de Cl_B aumentaron de $1,89 \pm 0,47$ y $3,02 \pm 0,40$ a $3,91 \pm 0,86$ (ml/kg/h) en animales de 1, 3 y 6 meses, en la medida en que disminuyen los valores de $t_{1/2\beta}$ (h) en ese mismo orden (93,9; 44,8; 39,0), desde las 207 h en adultos (Semrad y cols., 1993). Resultados semejantes a los que obtuvieron Volner y cols. (1990) quienes llevaron a cabo un experimento en el que se constataron las diferencias en la cinética de la FBZ en animales pertenecientes a tres grupos de edad (1, 3 y 6 meses). Una posible explicación a la prolongada eliminación de la FBZ era el probable reflejo de la inmadurez en la biotransformación hepática del compuesto de partida mediante oxidación a OFBZ y γ -OHFBZ (Semrad y cols., 1993). En una reciente revisión sobre FBZ en vacuno se constató la ausencia de trabajos sobre el comportamiento del fármaco en animales viejos (Arifah y Lees, 2002).

II.3.3.3.5. *Camélidos*

Dentro de las diferentes especies de rumiantes domésticos, los camélidos son también susceptibles de padecer procesos en los que el concurso de la FBZ resulta de gran ayuda.

Sendos trabajos en camello y dromedario estudiaron el comportamiento cinético de la FBZ. Mientras el primero de los trabajos en camello ajustó los datos de una administración i.v. a una dosis no facilitada a un modelo tricompartmental (Oukessou & Zine-Filali, 1992), los siguientes, llevados a cabo por idéntica vía y dosis prácticamente idéntica (4,5 y 4,4 mg/kg) en camello y dromedario, respectivamente (Wasfi y cols., 1997) y Kadir y cols., 1997) se adecuaban mejor a uno bicompartmental.

Por otra parte, el camello ha desarrollado una especial adaptación con el metabolismo del agua, lo que le diferencia de otros rumiantes. Pese a que el bajo volumen de distribución observado difería entre ambos estudios ($V_{ss}:90,8$ (l/kg), Wasfi y cols. (1997) y $V_{ss}:0,174$ (l/kg), Kadir y cols., (1997) es asumido por los autores como reflejo de una elevada unión a proteínas, al no tratarse de una sustancia polar.

La eliminación de FBZ tiene lugar principalmente por vía metabólica. La $t_{1/2\beta}$ de OFBZ fue de $23,9 \pm 2,09$ h (Wasfi y cols., 1997) y presentó unos C_{max} y t_{max} de 1,12 ($\mu\text{g}/\text{ml}$) y 1,2 (h) (Kadir y cols., 1997).

El bajo flujo urinario (0,73-2,2 l/d) puede resultar un factor limitante en la excreción de ciertos fármacos. Ello explicaría la prolongada semivida de eliminación de la OFBZ pese a la naturaleza alcalina de la orina del camello, que debería acelerar el aclaramiento renal de cualquier sustancia ácida. Fue de 12,63 el valor de Cl_T ($\text{ml}/\text{kg}/\text{h}$) (Wasfi y cols., 1997), próximo al de Kadir y cols., (1997) (Cl_B :10 $\text{ml}/\text{h}/\text{kg}$).

La semivida de eliminación de 22,1 horas obtenida en la primera de las investigaciones (Oukessou & Zine-Filali, 1992) resultó superior a las halladas posteriormente, muy semejantes entre sí: 13,44 h (Wasfi y cols., 1997) y 12,51 h (Kadir y cols., 1997).

Con respecto al MRT, ocurrió algo semejante a lo ya descrito para la semivida de eliminación: el valor encontrado por Oukessou & Zine-Filali (1992) era de 27,9 horas, mientras que Wasfi y cols. (1997) y Kadir y cols., (1997) hallaron sendos valores de 19,72 y 17,24 h. El fármaco resultó detectable, a valores inferiores a 0,1 ($\mu\text{g}/\text{l}$) hasta los 4 días tras administración i.v. e i.m., pero no a los 5 días (Kadir y cols., 1997).

Para la vía i.m., y en el caso del dromedario, se llevó a cabo un estudio semejante (administración de FBZ a seis hembras a una dosis de 4,4 mg/kg), tratando de conocer la biodisponibilidad media, que fue del 97%, aunque sujeta a grandes variaciones (Kadir y cols., 1997). Para esta vía, la semivida de eliminación resultó de 15,57 h, mientras que el valor de MRT fue 21,7 h. El pico de máxima concentración (17,45 $\mu\text{g}/\text{ml}$) se alcanzó a las 3,95 h con una meseta de concentración entre las 2 y las 12 horas.

La farmacocinética de la FBZ en llamas fue estudiada por Navarre y cols. (2001) tras administración vía i.v. y p.o. Se obtuvieron los siguientes valores: $t_{1/2\beta}$ =2,03 y 12,33 h (vía i.v. y p.o. respectivamente); MRT: 2,52 y 7,09 h (vía i.v. y p.o. respectivamente); Cl : 66,8 $\text{ml}/\text{h}/\text{kg}$ y V_{ss} : 155 ml/kg ; $C_{m\acute{a}x}$: 4,39 $\mu\text{g}/\text{ml}$; $t_{m\acute{a}x}$: 4,3 h; F: 70%.

Comparando los resultados se pone de manifiesto que a idéntica dosis a la administrada en otras especies de rumiantes, los parámetros resultantes en camello, dromedario y llamas, difieren con respecto a aquéllas. La cinética parece caracterizarse por una rápida distribución, elevado aclaramiento y una más corta semivida de eliminación, comportamiento distinto al descrito en vaca, oveja y cabra, especies en las que el volumen de distribución es, al igual

que el aclaramiento sensiblemente inferior, mientras que la semivida de eliminación obtenida fue más corta (ver II.3.3.3.3. y 4.). Los valores de $t_{1/2\beta}$ y Cl_T se sitúan entre los del caballo y los de otros rumiantes.

II.3.3.3.6. Perro

La aplicación de los AINE en el perro atiende a diferentes tipos de desórdenes, y en este sentido, las pirazolonas eran, probablemente, el grupo más extensamente empleado en la clínica de pequeños animales (McKellar y cols., 1991). La FBZ resultó el tratamiento de elección para desórdenes músculo-esqueléticos dolorosos o inflamatorios y junto a ésta, la mayor frecuencia de empleo correspondió a dipirona y flunixin-meglumine (Watson y cols., 1996). La FBZ se mostró como un fármaco efectivo en perros con osteoartritis (McKellar y cols., 1991). Así mismo, demostró su eficacia en el tratamiento de la sinovitis experimental aguda en esta especie. Sin embargo, cuando se administraba estando presentes los síntomas en su fase más aguda, existía una considerable variación en los resultados, especialmente en las dosis intermedias, es decir, a 2,5 y 5 mg/kg. (Rosenthale y cols., 1966).

Los primeros estudios farmacocinéticos de FBZ fueron realizados por Burns y cols. (1953) por vía i.v. (50 mg/kg), con estudio de las concentraciones plasmáticas globales, fracción plasmática libre y en tejidos. Un año más tarde se sugirió, a través de la experiencia clínica en una variedad de casos, la ayuda adicional que para el formulario de la medicina veterinaria podía suponer la inclusión en el mismo de la FBZ (Lieberman, 1954).

Desde el punto de vista cinético se valoró para la FBZ que el mantenimiento de concentraciones terapéuticas plasmáticas de 50 μ g/ml requerían dosis orales de 15 mg/kg cada 6 horas (Nielsen y cols., 1969). La dosis recomendada por dichos autores es considerablemente mayor que las establecidas comercialmente en la actualidad e incluso que la dosificación hallada como efectiva para perros con osteoartritis, de 8-16 mg/kg b.i.d. (McKellar y cols., 1991).

La FBZ presenta un elevado porcentaje de unión a proteínas, en torno al 95% (Zech y cols., 1993). El porcentaje de unión en una solución de proteína con albúmina al 5% se sitúa, para el perro, en torno al 97% (Perel y cols., 1964). Como se podía esperar de los elevados porcentajes de unión a proteínas, Mills y cols. (1995b) hallaron, tras administración i.v. de 30 mg/kg de FBZ en perros sanos y febriles, valores semejantes de V_{ss} en ambos grupos: 0,178 y 0,253, respectivamente (l/kg).

Se encontró que en esta especie la FBZ se metabolizaba 25 veces más

rápidamente que en el hombre y además, el metabolito principal, la OFBZ, se eliminaba también rápidamente en el perro (Nielsen y cols., 1969). La velocidad de metabolismo varía entre los distintos metabolitos de la FBZ entre 0,5 y 47 h (OFBZ y el derivado p,p'-difluor, respectivamente) (Perel y cols., 1964).

La cinética en esta especie no obedece a las típicas constantes de eliminación de primer orden. La cinética dosis-dependiente de la FBZ, al igual que sucede en otras especies, implica que la semivida de eliminación no puede ser determinada dogmáticamente (McKellar y cols., 1991). Quedó demostrado que al mismo tiempo que se incrementaba la dosis de FBZ disminuía su constante de eliminación del plasma. Esto se debía a una auto-inhibición de su propio metabolismo a nivel de las enzimas microsomales (Dayton y cols., 1967).

En el perro el valor de $t_{1/2\beta}$ oscila en la mayoría de los AINE entre las 3-6 h (Hardie y cols., 1985; Scherker & Frey, 1987) con excepción del naproxeno (Zech y cols., 1993). En el caso de la FBZ, el intervalo más frecuente es 2,8-6,7 h. (Burns y cols., 1953; Dayton y cols., 1967; Nielsen, y cols., 1969; Ruckebusch & Toutain, 1983; Tobin y cols., 1986; Lees y cols., 1987; Zech y cols., 1993; Mills y cols., 1995b). Sin embargo, ciertos estudios hallaron valores superiores, de 8,1 h a dosis de 50 mg/kg i.v. (Dayton y cols., 1967), resultado parejo al obtenido por Kitagawa y cols. (1968), 8,8 h y Perel y cols. (1964), 7 h, en ambos casos para una dosis de 50 mg/kg.

A partir de la concentración plasmática de la FBZ y de sus metabolitos (OFBZ, γ -HFBZ y γ -HOFBZ), fueron obtenidas las semividas, cuyos valores fueron de 7, 0,5, 2 y 2 h, respectivamente. Varían entre sí para los compuestos los valores de pKa, Kp y solubilidad en tampón a pH=7,4 (Perel y cols., 1964). Nielsen, y cols. (1969) hallaron un valor de semivida para la OFBZ semejante tras administración i.v. de FBZ de 0,7 h. Los valores que en ambos trabajos se hallaron parecen sugerir una estrecha relación entre las propiedades fisicoquímicas de los distintos compuestos y la correspondencia con la semivida de eliminación.

En el trabajo de Mills y cols. (1995b) el Cl_B arrojó un valor de 18,4 (ml/kg/h): el 20% de la dosis se aclaraba por la excreción urinaria de FBZ, OFBZ u OHFBZ. El metabolito principal en orina resultó éste último, siendo su valor cuatro veces la suma de los otros dos compuestos. En otros animales, a dosis de 100 mg/kg i.v. de OFBZ a las 24 h, el compuesto inalterado excretado con la orina suponía el 10,5 y 15%, mientras que un 18 y 28% eran los porcentajes correspondientes a glucurónido. Tras administración de FBZ (50 mg/kg p.o.), el porcentaje en idénticas

circunstancias no alcanzaba el 2% de la dosis, y los dos metabolitos (OFBZ y γ -HFBZ) representaban un 19,8 y 28%. Respecto a la excreción biliar, la FBZ es excretada en cantidades considerables, pero sólo un 1-2% de OFBZ (Perel y cols., 1964).

Por su parte, Mills y cols. (1995a) hallaron diferencias significativas entre ambos sexos en las concentraciones de FBZ, OFBZ y OHFBZ en plasma y orina de 50 galgos a una dosis i.v. de FBZ de 30 mg/kg. Observaron que las concentraciones en ambos fluidos, tanto en el caso de la FBZ como en el de sus metabolitos tras 24 y 48 horas resultaron enormemente variables; existía una débil correlación entre valores plasmáticos y urinarios de FBZ (coeficiente=0,38), no existiendo tal para los otros dos metabolitos. Como conclusión, exponen que resulta imposible predecir el tiempo al que se ha administrado la FBZ o la concentración plasmática de ésta a partir de la medida de la concentración del compuesto en una muestra urinaria simple. Las implicaciones que todo ello tiene en la peritación veterinaria en carreras de perros resultan innegables.

Aunque los análogos de la FBZ más ácidos son secretados con mayor amplitud por los túbulos renales del perro (Gutman y cols., 1960), no existe evidencia de la relación entre pKa y velocidad de disminución plasmática. La escasa correlación entre semivida y pKa puede deberse en muchos casos a que numerosos principios activos se encuentran en forma libre, y por tanto, accesibles para los enzimas metabolizadores. No obstante, no puede afirmarse que no exista correlación alguna entre semivida y fracción ligada al plasma, pues para los análogos más altamente ligados dichas semividas son, en general, más largas. Para los compuestos con más bajo porcentaje de unión plasmática (los hidroxianálogos de la FBZ) las causas que parecen justificarlo obedecen a la existencia de dos formas isoméricas y a su escasa solubilidad en lípidos.

Los estudios llevados a cabo parecen descartar que ni el estado febril ni el sexo tengan influencia alguna sobre la cinética de la FBZ en esta especie (Mills y cols., 1995 a y b). La dosis precisa disminuye en combinación con prednisolona p.o. (Kietzman y cols., 1996), siendo diferentes los valores de los parámetros farmacocinéticos. Además, la combinación resulta más efectiva clínicamente (Engelke y cols., 1995).

II.3.3.3.7. Conejo

En los años 50 se realizaron los primeros estudios farmacocinéticos en esta especie, en los que se obtuvieron datos preliminares (Wilhelmi, 1949; Wilhelmi, 1950; Pulver, 1950).

Estudios posteriores con dosis de 50, 100 y 200 mg/kg fueron llevados a cabo por diferentes vías. Por vía oral, los resultados de gran variabilidad que parecían sugerir una cinética no lineal, pues se incrementaban un 30% al duplicarse la dosis, con picos de concentración máxima a distintos tiempos. Señalar que a 200 mg/kg se producía una meseta de concentración entre las 2 y 15 horas, que para las otras concentraciones tenía lugar entre los 60-120 minutos (Coppi y cols., 1972).

En el trabajo de Toutain y cols. (1980) fueron comparadas las concentraciones de FBZ en plasma y tejidos, y si bien eran mayores siempre en plasma, no se encontraron diferencias significativas. El descenso de los residuos tisulares es paralelo al de concentración plasmática. Tanto en plasma como en músculo se produce un nuevo incremento de las concentraciones hacia las 7 horas, en tanto que se constata otro incremento previo a las 3 horas en músculo, corteza renal e hígado, y otro posterior en estos dos últimos a las 21 horas. Se encontró que el valor del índice del nivel de fármaco periférico:central tras equilibrio en pseudodistribución (F_c) era de 0,54 (K_{12}/K_{21}). Las concentraciones tisulares medias (músculo, hígado y riñón –médula y corteza-) oscilaron entre 0,82-0,92 $\mu\text{g/g}$. La cantidad residual de FBZ en el compartimento periférico se asume que es nula a partir de las 9 horas. No obstante, pese a ser menor la concentración tisular, la FBZ persiste largo tiempo en hígado y riñón.

Al administrar la FBZ i.m. a dos conejos a una dosis de 100 mg/kg (Burns y cols., 1953) en la extremidad posterior, se detectó, mediante disección post-mortem de 60 gramos de masa muscular alrededor del punto de inyección, que un 40 y un 15% del fármaco se encontraban en el tejido mientras se detectaban cantidades despreciables de fármaco en la extremidad opuesta. Ello sugería el acúmulo de FBZ en el lugar de administración.

Al contrario que en la mayoría de especies, el valor de unión a proteínas hallado para la FBZ en el conejo se sitúa por debajo del 90% (Burns y cols., 1953). Las diferencias halladas con respecto a ciertos parámetros de unión de determinadas sustancias entre hombre y conejo parecen deberse más a cambios microambientales y/o a modificaciones de la hidrofobia del lugar de unión (Kosa y cols., 1997). Posiblemente la albúmina del conejo posea diferentes lugares de unión para distintos fármacos, por lo que, al menos para FBZ no exista competencia ni desplazamiento en el

porcentaje de unión a la albúmina con otros fármacos (Imamura y cols., 1989). A pesar de que la unión a proteínas plasmáticas es algo inferior que en otras especies, sigue siendo elevada, y así, Toutain y cols. (1980b) hallaron un bajo valor del volumen aparente de distribución (0,183 l/kg). Sin embargo, en animales con fallo renal inducido por nitrato de uranilo (Belpaire y cols., 1977; Van Peer y cols., 1978) el porcentaje de unión a proteínas de la FBZ decreció, mientras que el volumen total de distribución se vio incrementado. Por su parte, el volumen de distribución de la FBZ libre disminuyó con el fallo renal agudo, en tanto que la semivida no se modificó, pero aumentó el aclaramiento plasmático con el fallo renal. Finalmente, también la capacidad de las enzimas hepáticas para metabolizar el fármaco se encontraba disminuida (Van Peer y cols., 1978)(ver II.3.3.2.3.).

Tras administración intravenosa (100 mg/kg FBZ), el valor de la semivida de eliminación obtenida, 3 horas (Burns y cols., 1953) era similar al hallado en trabajos posteriores (113,7 min) para una dosis de 8 mg/kg, i.v. (Toutain y cols., 1980). Para el principal metabolito de la FBZ en esta especie, la OFBZ, el resultado obtenido para los mismos parámetro y dosis resultó ser de 4 horas para una dosis de 50 mg/kg (Perel y cols., 1964). No fueron halladas cantidades apreciables de FBZ en orina (Burns y cols., 1953) y la excreción biliar de FBZ tras administración intravenosa de suxibuzona profármaco fue del 0,2% tras la primera hora, resultando la eliminación lenta (Roser y cols., 1977).

II.3.3.3.8. Rata

Los distintos experimentos llevados a cabo con la FBZ en rata presentan disparidad en cuanto a los resultados obtenidos, aún salvando las diferencias atribuibles a dosis, vía, metodología empleada, etc.

A dosis de 25 y 50 mg/kg tras inyección intravenosa, la concentración plasmática de fenilbutazona en ratas decrecía monoexponencialmente en función del tiempo (Jähnen & Levy, 1972; Perrey y cols., 1976). Rainsford y cols. (1981) estudiaron la distribución en el organismo de distintos AINE en la rata mediante técnica autorradiográfica. Para el caso de la FBZ son el hígado, seguido del riñón, los órganos con mayor acumulación.

El porcentaje de unión a proteínas oscila entre el 78,6-82% (Burns y cols., 1953; Coppi y cols., 1972). La unión de la FBZ se realiza de forma casi exclusiva a la albúmina, habiéndose detectado 1,9 lugares de unión por molécula (en individuos sanos) que pueden reducirse a 0,9 en especímenes con poliartritis inducida (Perrey y cols., 1976).

El valor del volumen de distribución se encontraba comprendido entre

209-730 ml/kg, para dosis de 25 ó 50 mg/kg, vía i.v. o p.o. (Von Bahr, 1970; Perrey y cols., 1976; Hanada y cols., 1987).

La FBZ en ratas sufre un metabolismo fundamentalmente hepático y de tipo oxidativo, originando 3 metabolitos principales: OFBZ, γ -OHFBZ y p, γ -OHFBZ; estos metabolitos son susceptibles de glucuronizarse y formar sus correspondientes metabolitos conjugados (Bakke y cols., 1974). En esta especie, el metabolito de mayor producción es γ -OHFBZ, seguido de OFBZ, si bien su porcentaje de excreción por distintas vías no siempre coincide con el porcentaje sobre concentración plasmática.

De las dosis administradas, aproximadamente un 61-74,1% se excreta por orina, fundamentalmente en forma de γ -OHFBZ y p, γ -OHFBZ (35% de la dosis) y en menor proporción (1 y 3% respectivamente) como FBZ inalterada y OFBZ (Bakke y cols., 1974; Alexander y cols., 1985). Sólo un 14,1% de la dosis administrada se recuperó en heces, en su mayoría (66%) durante las primeras 24 horas post-administración. A diferencia de la orina, la forma química mayoritaria en heces es OFBZ y diversos metabolitos conjugados (Bakke y cols., 1974; Alexander y cols., 1985).

La presencia de elevadas concentraciones plasmáticas de OFBZ puede influir en la disposición del fármaco original, ya que inhibe su eliminación (Cl de 44,6-52,1 a 32,2 ml/kg/h) y prolonga su semivida plasmática de 2,78-3,99 a 4,91 h (Von Bahr, 1970; Jähnchen & Levy, 1972; Coppi y cols., 1972; Perrey y cols., 1976; Hanada y cols., 1987). Tras administración i.p. (100 mg/kg) la semivida de FBZ en ratas resultó ser de 6 h (Burns y cols., 1953) mientras que a dosis de 50 mg/kg p.o., el valor de la semivida fue de 5 h y el del aclaramiento de 101 ml/kg/h (Hanada y cols., 1987).

Al valorar el grado de influencia de la forma química, en un estudio comparativo entre la FBZ sódica y la cálcica administrada por vía oral (Hanada y cols., 1987) los valores de semivida de eliminación, volumen de distribución y aclaramiento de ambas formas no diferían entre sí.

Para la rata son numerosos los factores que pueden llegar a influir en el comportamiento cinético de la FBZ, de los cuales cabe citar la mayoría de los más frecuentemente considerados: raza o estirpe, sexo, edad y estado patológico, entre otros.

Los resultados del trabajo de Perrey y cols. (1976) arrojaron pequeñas diferencias entre sujetos en los valores obtenidos de eliminación y distribución de la FBZ en función de la estirpe empleada (estirpe *Lewis*) debido posiblemente a la influencia de aquella en el metabolismo; así, en

ratas de estirpe *Sprague-Dawley*, la semivida biológica y el volumen de distribución aparente de FBZ en 14 especímenes variaron entre 1,9 y 5,7 hs. y 152 y 243 ml/kg (Jähnchen & Levy, 1972). La misma estirpe *Lewis* había mostrado una elevada susceptibilidad a la poliartritis inducida (Whitehouse & Beck, 1973). Otro factor influyente es el sexo, pues existen notables diferencias en el metabolismo de fármacos entre machos y hembras en rata (Alexander y cols., 1985).

Los parámetros cinéticos en ratas se modifican tras la administración única de FBZ en función de la edad, llegando a ser, tras 20 semanas de protocolo de 3,27 h (semivida), 197 ml/kg (volumen de distribución) y 41,9 ml/Kg/h (aclaramiento). El incremento de la semivida observado en la fase aguda de la artritis inducida debía ser el resultado de una oxidación más lenta del fármaco. Ello era verificado por el descenso del aclaramiento plasmático pese al marcado incremento del volumen aparente de distribución, así como por el acusado descenso en el contenido en citocromo P-450 y b₅ en los microsomas hepáticos.

En ratas tratadas con FBZ (25 mg/kg p.o.) e inducido un cuadro de poliartritis mediante adyuvante a través de cuatro pautas diferentes se halló que los animales con cuadro patológico mantenían unas concentraciones notablemente superiores de FBZ en el punto de inoculación respecto a los animales control sin cuadro inflamatorio, lo que llevó a concluir que la FBZ se halla prioritariamente en los lugares de acción terapéutica y de efectos secundarios (DiPasquale y cols., 1975).

II.3.3.3.9. Ratón

En un primer trabajo fueron medidas las concentraciones plasmáticas de la FBZ tras administración intravenosa a ratones a una dosis no proporcionada (Nielsen & Holmen-Christensen, 1967). Las muestras eran tomadas por punción cardíaca a tiempos sucesivos entre 3 y 360 minutos post administración; en cada punto era empleado un único animal.

El comportamiento farmacocinético de la FBZ en ratones está condicionado por la rápida aparición de metabolitos (entre 15 y 30 minutos post administración del fármaco); la mayoría de la dosis administrada era eliminada en la primera hora tras la administración, momento a partir del cual la tasa de eliminación decrecía más paulatinamente. Tras administración intraperitoneal de FBZ a dosis de 100 y 200 mg/kg, la semivida biológica resultó de 1,5 y 3 horas, respectivamente. Todo ello se corresponde con una elevada actividad enzimática, que medida a través de enzimas microsomales hepáticas, arrojó una tasa metabólica del 42,22% (desaparición de 2 mg de FBZ como sustancia parental) (Kitagawa y cols., 1968).

II.3.3.3.10. Otras especies

Cerdo. En esta especie se han estudiado tanto la farmacocinética de la FBZ como la de su principal metabolito (OFBZ). Uno y otro fueron inyectados a diferentes dosis (20 y 40 de FBZ y 10 de OFBZ mg/kg, vía i.v.). A diferencia de lo señalado para otras especies, no se advirtieron diferencias significativas en la tasa de eliminación y volumen de distribución aparente en función de la dosis de FBZ y la eliminación de plasma sigue en ambos casos una cinética de primer orden. Se mantuvo el patrón de bajo volumen de distribución (0,18 y 0,20 l/kg) condicionado por un elevado porcentaje de unión a proteínas plasmáticas (98,2%) y una rápida eliminación plasmática ($t_{1/2\beta} \approx 6$ horas; Cl: 0,65 y 0,47 (ml/kg/min), para las dosis de 20 y 40 mg/kg, respectivamente. Entre un 18 y un 60% de FBZ se transformaba en OFBZ, que se eliminaba en mayor proporción y con mayor rapidez por riñón (6,8%; Cl:0,13 ml/kg/min) que la FBZ (0,13%; Cl:0,003 ml/kg/min); los parámetros de la OFBZ, resultaron ser 87,7 minutos ($t_{1/2\beta}$), 2,28 (Cl, ml/kg/min) y 0,28 (V, l/kg), con un porcentaje de unión a proteínas plasmáticas de 96,7% (Hvidberg & Rasmussen, 1975).

Gato. El empleo de la FBZ resulta desaconsejable en gatos, dada su elevada toxicidad. Ésta se debe a que la FBZ se metaboliza rápidamente a OFBZ (Martín-Jiménez & Papich, 2002) y que a diferencia de otras especies, es causante en el gato de una toxicidad que afecta principalmente a médula ósea, con disminución de la actividad eritroblástica y posible interferencia de los procesos de maduración de la línea mieloide (Carlisle y cols., 1968; Atkins & Johnson, 1975) El metabolito se elimina muy lentamente, y también da origen a sintomatología gastrointestinal, hepática y renal. No obstante, algunos trabajos indicaron que la FBZ combinada con otras sustancias (FBZ-isopirina; FBZ-isopirina-dexametasona-cincocaína) era mejor tolerada y lograba una mayor eficacia terapéutica y postquirúrgica (Morosanu y cols., 1972; Mundt, 1972; Fryc & Gogolewski, 1981).

Aves. Pese a la creciente preocupación por el sufrimiento animal y el reconocimiento de condiciones de todo tipo (médicas, traumáticas o quirúrgicas) causantes de dolor en animales, existen muy pocos datos sobre la posible aplicación de los AINE en este Orden (Boothe, 1989; Jouglar & Bernard, 1992). Sin embargo, el salicilato sódico es empleado a menudo en avicultura como antiinflamatorio, antipirético y analgésico contra enfermedades respiratorias, desequilibrios intestinales, estrés por calor, etc. (MacDaniel y cols., 1993; Baert & De Backer, 2003).

De entre los pocos datos farmacocinéticos disponibles para aves (Baert & De Backer, 2003), cabe citar la indometacina (Cristófol, 2000), o salicilato de sodio, meloxicam y flunixin-meglumine (Baert & De Backer, 2003).

Por su parte, la FBZ ha probado su eficacia en diferentes estudios con producción experimental de inflamación a través de trementina (Ito & Bohm, 1986; Jain y cols., 1995), o simplemente como postoperatorio para cortes de pico (Glatz y cols., 1992), reduciendo el edema e inhibiendo la permeabilidad vascular; otros trabajos sugerían un papel notable para lípidos vasoactivos y polipéptidos en la anafilaxia (Chand & Eyre, 1978) y la mediación de la respuesta a través de la liberación de prostaglandinas y/o leucotrienos. Sólo por vía oral el uso de FBZ en aves resulta efectivo, a distintas dosis, para diferentes órdenes (psitácidas, falconiformes, ratites) (Tully, 1997; Carpenter y cols., 2001), pese a que todo parece indicar que se trata de dosis empíricas. Los sitios de unión para la albúmina parecen diferir entre la especie humana y la gallina (Rajaian y cols., 1997).

II.3.4. Toxicidad

Pese a la heterogeneidad de los AINE, se trata de compuestos que comparten, además de ciertas propiedades terapéuticas, algunos efectos adversos y toxicológicos. De entre los casos de reacción adversa o intoxicación a este grupo, ascendían al 8% (medicina humana y veterinaria conjuntamente) las notificaciones efectuadas por su uso, ocupando la FBZ el sexto puesto (Kore, 1990).

II.3.4.1 Toxicidad por administración única

Domenjoz estudió la toxicidad en administración única de la FBZ, así como de su principal metabolito, la oxifenbutazona (OFBZ), a la vez farmacológicamente activo y tóxico, tras administración oral e intravenosa en ratones y ratas y tras inyección i.v. en el conejo. De acuerdo con la sintomatología observada, Domenjoz describe básicamente signos de estimulación del SNC que se traducen en aceleración del ritmo respiratorio, temblores y convulsiones. Para el ratón la DL_{50} de FBZ fue de 112 y 680 mg/kg por vía i.v. y p.o., respectivamente; 150 y 1280 en el caso de la rata y 146 para la administración i.v. en el conejo. Para otros autores estos valores difieren y la DL_{50} en rata por vía oral oscilaba para la FBZ entre 647 y 1311 mg/kg (Budavary y cols., 1989). Para el caso de la OFBZ, los valores de DL_{50} fueron de 52 y 480 en el ratón, 68 y 980 en la rata (i.v. y p.o., respectivamente) y 104 para el caso del conejo por vía i.v.

II.3.4.2. Toxicidad por administración reiterada

Welch y cols. (1967) realizaron diversos trabajos sobre la toxicidad por administración reiterada en perros y ratas, pero teniendo en cuenta los fenómenos de inducción enzimática y de detoxificación hepática. En efecto, durante la administración reiterada de FBZ ésta ejerce un efecto inductor enzimático a nivel hepático, lo que acelera su biotransformación. De este modo, después de algunos días de tratamiento, se puede observar una disminución de las tasas plasmáticas de FBZ y desaparición de los síntomas tóxicos observados durante los primeros días (principalmente de la presencia de sangre en heces, evidencia de la irritación gastrointestinal). Del mismo modo, si los animales son sometidos a un tratamiento previo con otro inductor enzimático la frecuencia y gravedad de las lesiones gastrointestinales disminuye considerablemente durante la administración de FBZ.

En las especies de roedores, rata y ratón, dentro de los estudios por administración reiterada, diferenciaremos entre aquellos desarrollados a corto plazo (21 o 30 días) y los efectuados en un período de tiempo superior (1-2 años)(Nakano y cols., 1979; Kari y cols., 1995).

En un estudio llevado a cabo por Domenjoz (1960) en ratas fueron administradas FBZ y OFBZ por vía oral en diferentes dosis durante 30 días consecutivos, mientras Gaetani y cols. (1972) compararon los efectos de diversos AINE, entre ellos la FBZ, debidos a la administración durante 21 días consecutivos a ratas de ambos sexos. En el primer experimento, el 50% de las ratas sucumbió a una dosis de 300 mg/kg/día, así como el 60% de las ratas tratadas con 250 mg/kg de OFBZ; por el contrario, a dosis de 75 y 125 mg/kg de FBZ y OFBZ, respectivamente, no se produjo ninguna muerte.

Domenjoz (1960) observó en ambos casos irritación de la mucosa digestiva e hiperemia junto con ulceración como principales evidencias. El poder ulcérigeno de la FBZ era claramente superior al de la OFBZ. Gaetani y cols. (1972), por su parte, observaron la aparición de elevada mortalidad, baja ganancia de peso, anemia y cambios en el parénquima de estómago, hígado, riñones y tejidos hemolinfopoyéticos.

Por otro lado, tanto en un estudio toxicológico a largo plazo –2 años– con exposición al agente FBZ llevado a cabo en ratas y ratones (Kari y cols., 1995) como en un estudio sobre la toxicidad de suxibuzona en ratas de ambos sexos por vía oral (Nakano y cols., 1979), en el que fue administrado a uno de los grupos, durante 12 ó 18 meses la dosis de FBZ fue de 200 mg/kg/día, entre los numerosísimos efectos tóxicos patentes, la práctica

totalidad de los órganos y sistemas se vieron afectados, con síntomas muy diversos. La principal consecuencia del trabajo de Kari y cols. (1995) fue la aparición de tumores renales en ratas y hepáticos en ratones. Nakano y cols. (1979) hallaron efectos ulcerogénicos en más de un tercio de los animales tratados con FBZ; esta sustancia provocó además disminución de peso y descenso de los valores de hemoglobina, alanino-aminotransferasa, aspartato-aminotransferasa y lactato-deshidrogenasa, y linfocitopenia; además, sangre oculta en heces y trombocitosis.

En el perro, si bien la literatura más reciente se ocupa más de reacciones adversas surgidas a raíz de tratamientos de procesos clínicos (Watson y cols., 1980; Daehler, 1986; Storset, 1990; Wallace y cols., 1990), dichos tratamientos no dejan de ser, en realidad, estudios toxicológicos a corto plazo. Los trabajos existentes acerca de la toxicidad de la FBZ fueron llevados a cabo con anterioridad. Las dosis comprendían desde 30 (Watson y cols., 1980) hasta 150 mg/kg (Yoshida y cols., 1980), administradas en un tiempo máximo de 18 meses (Fujimura y cols., 1977)

El empleo de AINE en el perro da lugar a signos inespecíficos que comprenden, entre otros, vómitos, diferentes grados de letargia, palidez de mucosas, debilidad y colapso, llegando incluso a perder la estación (Wallace y cols., 1990).

Afectando al aparato digestivo, se provoca enfermedad gastrointestinal en el perro por el empleo de AINE dando lugar a síntomas inespecíficos, entre los que se cita hematemesis, melena, anemia, anorexia, dolor abdominal, y úlcera gastrointestinal, que incluso en un caso llegó a derivar en perforación gástrica y peritonitis (Wallace y cols., 1990). También en otro trabajo llevado a cabo en perros de raza *Beagle* (Yoshida y cols., 1980), en el que fueron estudiadas conjuntamente la FBZ y la suxibuzona, la primera fue administrada a dosis de 150 mg/kg por vía oral cada 24 horas durante 3 meses, y las manifestaciones surgidas fueron, entre otras, alteraciones gástricas. Por su parte, Mazué y cols. (1983) demostraron que la FBZ administrada en dosis de 100 mg/kg en perros de raza *Beagle* provoca gastritis tras administración única, pero si este tratamiento se prolonga durante 4 semanas no hay prácticamente efectos ulcerogénicos.

Los efectos tóxicos fueron evidentes tras administrar a perros de raza *Dachshund* 100 y 50 mg cada 12 horas p.o. durante 11 y 27 días, respectivamente, ocasionando severas hemorragias, éstasis biliar y fallo renal (Tandy & Thorpe, 1967). Yoshida y cols. (1980) también pusieron de manifiesto la existencia de alteraciones de tipo hepático. Fujimura y cols. (1977) revelaron aumento del peso total y relativo del hígado, con hipertrofia

celular, así como un caso de nefritis crónica bilateral.

Fujimura y cols. (1977) hallaron eritropenia y hemoglobinemia, con descenso del hematocrito junto a sangre oculta en heces. Watson y cols. (1980) describieron problemas hematológicos y afecciones de la médula ósea en tres perros tratados durante varias semanas consecutivas con FBZ con dosis de hasta 30 mg/kg. Sin duda el efecto secundario más temible es sobre la actividad del sistema hematopoyético y medular, al igual que sucede en el hombre.

Ya en 1962, Gabriel & Martín valoraron los posibles efectos tóxicos de la FBZ en équidos durante administraciones reiteradas, a corto y largo plazo, tanto a caballos de pura raza como a mestizos.

En relación con los équidos, constatar un factor de predisposición racial en los *poneys* (Snow y cols., 1981; Mackay y cols., 1983). Con anterioridad, la administración de dosis de 10 mg/kg de FBZ durante 7-14 días consecutivos (Snow y cols., 1979) había provocado diferentes problemas, con mortalidad aparejada. Las complicaciones surgen, para dosis de 10-12 mg/kg/día, a partir de la primera semana. (Snow y cols., 1981; Mackay y cols., 1983). En conjunto, diferentes parámetros variaban sobreviniendo hipoproteinemia, hipocalcemia, hiperuremia, neutropenia e incrementos de las tasas de creatinina y fósforo séricos. En la necropsia se detectaron edema submucoso de intestino grueso y úlcera bucal junto con úlceras gastrointestinales, necrosis renal y trombosis vascular. Snow (1987) también puso de manifiesto una posible mayor susceptibilidad de los potros a padecer el síndrome gastrointestinal al administrar FBZ p.o., mientras otros autores aluden a diferencias de susceptibilidad entre razas (Higgins y cols., 1984).

Collins & Tyler (1984) demostraron en una población de 269 caballos que dosis de 8,8 mg/kg/día durante un máximo de 4 días o entre 2-4 mg/kg/día durante un máximo de 50 días son toleradas sin problemas. Por encima de los 8,8 mg. aparecen signos de intolerancia más o menos acusados en función de la dosis y duración del tratamiento. En ese sentido, Tobin y cols. (1986) recomiendan no sobrepasar las dosis máximas, siempre en función de los días de duración del tratamiento establecido.

Los signos tóxicos en esta especie abarcan anorexia, depresión, úlceras orales, gástricas e intestinales, pérdida de proteínas plasmáticas por enteropatía e incluso muerte por shock (Gerring y cols., 1981; Collins & Tyler, 1984). También pueden presentarse neutropenia, lesiones hepáticas y

necrosis papilar renal (Gunson y Soma, 1983; MacKay y cols., 1983; McKellar y cols., 1995).

En el hombre, la FBZ es, al tiempo que sumamente eficaz, uno de los AINE que da lugar a mayor número de complicaciones, pues provoca cuantiosos efectos secundarios de gravedad variable, reversibles al cese de la terapia. Entre otras consecuencias derivadas de su uso, la aplasia medular que puede llegar a provocar empujó, ante la existencia de alternativas terapéuticas, a desaconsejar su empleo, que en la actualidad puede considerarse prácticamente nulo. En realidad, los efectos tóxicos de la FBZ deben interpretarse en un contexto adecuado, pues muchos de los accidentes parecen deberse mayoritariamente a posologías elevadas, a la vía de administración utilizada -la vía parenteral es mejor tolerada y la oral era la más habitual- y a una predisposición genética, relacionada con el metabolismo de la FBZ, en todos los casos con relativa independencia de la duración del tratamiento.

II.4. ALOMETRÍA

II.4.1. Introducción. Concepto

Serían Huxley & Tessier (1936a y b) quienes primero acuñasen el término alometría, palabra que deriva de los vocablos griegos *allos* -diferente, otros- y *metron* -medida-. Literalmente, de una medida diferente. Es decir, crecimiento o desarrollo relativo de una parte de un organismo respecto al conjunto de éste. Medida y estudio de este desarrollo. También, ciencia que estudia el crecimiento diferencial de los órganos o partes de una cosa y permite demostrar cómo un cambio pequeño en el crecimiento relativo de un órgano puede dar lugar a una importante modificación en el resto del organismo (Alberch, 1979).

La alometría ha servido como herramienta de apoyo a numerosas disciplinas científicas. En cualquier caso, las aplicaciones y los estudios emprendidos se caracterizan por su carácter claramente multidisciplinar. Su utilidad es manifiesta en campos ajenos a la biología (Ingeniería, Física, Química, Música,...), tal y como mostraron MacMahon y Bonner (1986). Basta con imaginar, por ejemplo, el traslado de la producción de un compuesto químico en el laboratorio a una planta industrial (Morris, 1999). En ingeniería, por ejemplo, se reconocen 4 tipos genéricos de escalaje (Boxenbaum, 1984):

- Aumento del número de unidades trabajando en paralelo.
- Mantenimiento del diseño y la función e incremento del tamaño.
- Alteración del esquema de flujo del sistema de base.
- Elección de otro tipo de equipamiento.

Ante un aumento de tamaño, cualquier organismo adopta esas mismas soluciones (Morris, 1999): la ingeniería no ha hecho sino copiar a la Naturaleza.

En un sentido amplio, la Zoología ha necesitado a menudo de la participación de la alometría para resolver satisfactoriamente numerosas cuestiones. Por ejemplo, la conocida *Ley de Bergman* afirma que los animales que se encuentran más cerca de los polos tienden a ser más grandes que los de zonas más cálidas. La explicación a dicha Ley se basó en la alometría, pues para animales de la misma forma, reza la teoría, los organismos más grandes tienen menor superficie externa por unidad de peso que los más pequeños, por lo que un tamaño grande sería beneficioso en un clima frío para disminuir la pérdida de calor (Arita, 1998). Otros ejemplos serían la Entomología, que se sirve de este concepto para estudiar, entre otros

aspectos, el desarrollo larvario de ciertas especies (Frears y cols., 1996; Nijhout & Emlen, 1998; Reichard, 1998). La Paleontología, que precisa apoyarse en esta rama para la reconstrucción de los rasgos de las primitivas poblaciones de especies ya extinguidas a partir de hallazgos fósiles (Bonner, 1965, 1968). O bien la Ecología, abordando cuestiones dispares, desde la estructura bucal de las avispas parásitas (Jervis, 1998) a la influencia del dimorfismo sexual en el tamaño corporal (Pérez-Barbería & Gordon, 1998) pasando por las densidades poblacionales y el tamaño de la estructura de la comunidad (Cyr y cols., 1997) o la longitud de la columna vertebral de los primates (Majoral y cols., 1997).

Dentro de las Ciencias de la Salud, mencionar la Farmacología Humana, en donde el cálculo de la dosis en pediatría o para mujeres embarazadas (Mirochnik, 2000) o de ciertos medicamentos anticancerosos (Chen & Gross, 1979; Paxton, 1995; Mahmood, 1996; Mahmood, 2001b; Zhou y cols., 2002) se realiza con arreglo a criterios alométricos. La cuantía y frecuencia de administración de un fármaco dentro de las poblaciones de riesgo (ancianos, niños, embarazadas,...) deben ser previamente sopesadas, si bien no existen reglas fijas para el cálculo de la dosis óptima de un determinado medicamento para su utilización en niños (Guerra, 1999).

Ya dentro del campo de la Veterinaria, recurren a la bondad de los cálculos alométricos tanto la Anatomía (Corral & Martín, 1984; Cubo & Casinos, 1998) como la Fisiología (Kirkwood, J.K., 1991; Hoppeler & Weibel, 1998; Lindstedt & Schaeffer, 2002), la Parasitología (Hutcheson & Oliver, 1996) o la Zootecnia (Emmans & Kyriazakis, 1997; Osorio y cols., 1999; Pires y cols., 2000). El concurso de la alometría permite la obtención de parámetros fisiológicos y anatómicos cuya utilidad, aplicada por ejemplo al campo de la Zootecnia, permite, entre otras cosas, valorar y predecir los rendimientos de las especies de producción.

Pero sin duda nuestro interés se centra en la aplicación a los campos de la Farmacología y Terapéutica Veterinarias. La peculiaridad inherente de ambas materias reside, sobre todo, en la diversidad – filogenética, metabólica, bioquímica o de cualquier otra índole- de especies tratadas. Las dificultades que surgen como consecuencia de aquella pueden llegar a ser sorteadas o minimizadas gracias, nuevamente, a la alometría.

II.4.2. Fundamento y evolución del concepto de alometría

Todos los animales superiores parten de una sola célula, el óvulo fecundado, de tamaño muy semejante en unas y otras especies. Más tarde, esa célula se divide sucesivas veces y las células de ella derivadas van diferenciándose hasta dar lugar al individuo adulto, de tamaño, morfología y características diferentes según la especie animal a la que pertenezca. Simultáneamente tienen lugar dos fenómenos: el crecimiento o aumento de tamaño del nuevo ser, y la diferenciación y desarrollo de sus distintos órganos, para alcanzar, para cada órgano, su tamaño normal y la plena capacidad funcional (Palacios & García, 1972).

Ya en un nivel estructural superior, los organismos, que no dejan de ser sistemas físicos, deben obedecer a ciertas leyes establecidas por el ambiente. Esas leyes, que en definitiva son restricciones físicas, se dejan sentir poderosamente en la forma del individuo, pues los organismos grandes se relacionan con sus ambientes de forma diferente a los pequeños: muchos procesos físicos y fisiológicos varían en proporción con el tamaño. Cada organismo diseña sus propias soluciones, únicas, a los problemas planteados por el ambiente físico (Ricklefs, 1998). Por eso, los animales y plantas de mayor talla viven más, la actividad de sus células es más lenta y sus formas externas pueden diferir mucho de las que presentan organismos menores (Ricklefs, 1998).

A grandes rasgos, la evolución propició en su curso un incremento sostenido del límite superior de tamaño de animales y plantas, e impuso esas condiciones a la forma. Más exactamente, el tamaño se ajustó a las necesidades. Como consecuencia, numerosas formas, excesivamente *costosas* y con escasa o nula capacidad de adaptación se extinguieron (aves, anfibios, o reptiles primitivos). Por su parte, los mamíferos aumentaron progresivamente de tamaño, lo cual dio como resultado la formación de estructuras anatómicas y fisiológicas extraordinariamente complejas, con una variación de las proporciones de los distintos órganos (Vogel & Angermann, 1974). En este principio, conocido como *Ley de Cope*, subyace y se fundamenta el concepto de alometría.

Todo ello llevó al análisis de las causas por las que la evolución había conducido a estadios filogenéticos más complejos. La conclusión que se alcanzó es que aquella precisaba del cumplimiento de tres premisas principales (Rensch, 1954):

- *Aumento de la diferenciación.* Crecimiento alométrico positivo de ciertos conjuntos de tejidos que llevan aparejado un incremento de complejidad.
- *Racionalización funcional y estructural.* El aumento en el rendimiento de los órganos pasa por la división del trabajo, y por tanto se caracteriza por una diferenciación cada vez más divergente de numerosos órganos, inicialmente análogos.
- *Poder progresivo de adaptación.* Los organismos más evolucionados se distinguen por una independencia superior en relación con los cambios del mundo exterior.

En consecuencia, el advenimiento de la pluricelularidad abrió las compuertas de la evolución, permitiendo la aparición de grandes animales, organismos con cerebro de creciente complejidad estructural, árboles gigantes, etc. Sin embargo, dentro de la gran variedad de grandes organismos eucariotas pluricelulares, el tamaño celular ha permanecido constante dentro de unos límites notablemente restringidos. La evolución estructural de los animales se ha visto influida en gran medida por las limitaciones impuestas por el tamaño (Schmidt-Nielsen, 1984). Es decir, hay formas que son físicamente imposibles para los organismos grandes, y otras no menos prohibidas para los pequeños. De igual modo, también es cierto que las formas imponen ciertas condiciones al tamaño: el argumento opera en las dos direcciones (McMahon & Bonner, 1986). Pero la reducción o el aumento de la talla pueden dar lugar a cambios que, en contra de lo que quizá cabría esperar, no guardan proporción. Es decir, no son simples, lineales ni sencillos. De algún modo, el principio de la escala, procedimiento que seguimos para comprender las consecuencias que los cambios de tamaño originan en el cuerpo, se relaciona con el principio de similitud.

Todo ello fue advertido hace ya tiempo y suscitó la curiosidad de los investigadores desde épocas tempranas (Galilei, 1638). Más adelante, las investigaciones se orientaron, a partir de observaciones semejantes, en distintas direcciones: relación entre tasa metabólica basal y tamaño (Rubner, 1883); relación entre consumo de oxígeno, superficie y peso corporal (Von Hoesslin, 1888, citado por Schmidt-Nielsen, 1980); el área superficial como factor de escala en el tamaño (Dubois & Dubois, 1916); relación entre pérdida de calor, superficie corporal y volumen (Rameaux & Sarrus, 1830); variación en la relación del metabolismo con el peso en grupos de animales ectotermos y endotermos, (von Bertalanffy, 1951; von Bertalanffy & Pirozynski, 1953), etc.

A menudo, las aportaciones y observaciones hechas por los investigadores eran contradictorias, pues con frecuencia o bien partían de premisas erróneas, o bien tendían a simplificar las causas subyacentes de la variación de los datos (Gill & Hafs, 1971). Ello motivó que en un campo ya de por sí complejo se avanzase con cierta lentitud.

Los primeros intentos de medición y cuantificación de todos estos cambios datan del siglo XX, como la obra *Medida de cambios de proporciones o transformaciones cartesianas* (Thompson, 1917). Kleiber (1932, 1975) relacionó la tasa metabólica con la masa corporal y el tamaño del cuerpo, representando el organismo como una serie de cilindros adosados, cada uno de ellos contribuyente con un diámetro (d) y una longitud (L) a la masa total. Por último, MacMahon (1973, 1975a, 1975b) trató de comprender el diseño estructural de los mamíferos analizando el tamaño corporal, el perfil y los huesos de las extremidades para relacionarlos con la biomecánica; llegó a la conclusión de que los animales, comparados por especies, no son iguales. Para ello se valió de la regla de proporcionalidad relativa a la isometría (semejanza isométrica) en la que se emplean dos escalas, la longitudinal (L) y la transversal (d), donde d es proporcional a L en 2/3.

Como ya se ha comentado, el término alometría sería ideado por Huxley & Tessier (1936). La primera fórmula alométrica (Kleiber, 1932) cotejaba la relación entre dos parámetros, dejando de lado las sutilezas y complejidades de los cambios de forma. Se propuso una ecuación para relacionar una variable dependiente, Y, con una independiente, X, siendo *a* y *b* constantes, mediante la expresión:

$$Y=bX^a$$

II.4.3. Alometría en Farmacología y Terapéutica

A grandes rasgos, el objetivo de la administración de un fármaco (farmacoterapia) es alcanzar durante un cierto período de tiempo el efecto deseado (respuesta farmacológica) con un riesgo mínimo (reacciones adversas, efectos secundarios). Dicho de otro modo, en uno de sus aspectos, la Farmacología se ocupa de los preceptos y remedios para la curación, relacionados con los fármacos. En suma, los efectos y los mecanismos de acción de los fármacos (Farmacodinamia), los cuales requieren una descripción de su paso por el organismo (Farmacocinética). Las diferencias en la dosificación entre especies pueden atribuirse a las variaciones en el

comportamiento farmacocinético y/o a la actividad farmacodinámica (Baggot, 1992).

Un fármaco provoca una modificación fisiológica de un proceso bioquímico como consecuencia de su interacción con un receptor. Esta interacción presenta un aspecto cuantitativo, la relación dosis-respuesta. Existe toda una serie de factores que modificarán el aludido aspecto (afinidad, selectividad, especificidad, seguridad, etc.). Resulta indudable que la cuantificación permite ser abordada desde el punto de vista alométrico. Con relación a los fármacos, las diferencias entre especies se pueden dividir en dependientes o independientes del tamaño (Morris, 1999). Serán necesarias, aún dentro de una misma especie, pautas muy distintas de tratamiento atendiendo a las diferencias entre adultos, juveniles o inmaduros. Dichas diferencias se hacen patentes en lo que se refiere a biodisponibilidad del fármaco, sensibilidad de los distintos órganos diana o de los receptores específicos de ciertos fármacos, entre otros factores (VVAA, 2000).

El análisis del comportamiento o tránsito del fármaco en las distintas zonas o elementos del organismo desde que se administra hasta que se elimina precisa de la ayuda de modelos de trabajo. En este sentido, la Farmacocinética puede definirse simplemente como el empleo de modelos matemáticos para cuantificar la concentración de un fármaco (Riviere, 1997). Dichos modelos están constituidos por sistemas que combinan variables dependientes e independientes y parámetros farmacocinéticos. Esos parámetros farmacocinéticos resultantes son siempre dependientes de una o varias funciones fisiológicas.

Por regla general, la variable dependiente corresponde al nivel/concentración de fármaco en distintos sistemas corporales, generalmente en sangre; la independiente, al tiempo transcurrido tras la administración del fármaco. Las dos variables van a trazar la curva de concentración del fármaco en fluidos biológicos en función del tiempo, representación que refleja el conjunto de procesos que definen el comportamiento cinético del fármaco. A su vez, ambas variables se correlacionan a través de parámetros de muy distinta naturaleza (fisiológicos, físico-químicos, de orden cinético, etc.). Ciertas funciones matemáticas específicas, al tiempo que *conectan* todo ello, son las que abren paso a los modelos farmacocinéticos.

En definitiva, los procesos cinéticos que experimenta un fármaco en el organismo dependen del tamaño y flujo sanguíneo de los órganos o tejidos, así como de los mecanismos que gobiernan los procesos de

transporte, unión y biotransformación del fármaco en las diferentes estructuras extra o intracelulares del organismo.

Así pues, el análisis global de la información obtenida precisa de la ayuda de modelos de trabajo de naturaleza variable. Los modelos farmacocinéticos caracterizan el comportamiento de las sustancias naturales y sintéticas tanto en los animales como en el hombre (Hayton, 1989). Existen numerosos modelos para cuantificar los datos farmacocinéticos. La mayoría de ellos pueden ser clasificados basándonos en que el análisis matemático lleva a cabo alguna asunción implícita acerca del mecanismo de la disposición del fármaco estudiado, y las técnicas empleadas para formular estas correlaciones (Riviere, 1997). Presentan los modelos clásicos ciertas limitaciones, pues carecen de la capacidad descriptiva y discriminativa de los procesos que realmente experimenta un fármaco en el organismo (Sánchez, 1997). Los modelos farmacocinéticos más comunes, junto con las funciones matemáticas que los sostienen, quedan recogidos en el siguiente cuadro (Martínez, 1999):

Modelos habituales en Farmacocinética.

TIPO DE MODELO	MÉTODO DE ANÁLISIS
<i>Compartimental</i>	<i>Función exponencial</i>
<i>No lineal</i>	<i>Función hiperbólica</i>
<i>Fisiológico</i>	<i>Sistema diferencial de balance de masa</i>
<i>Independiente</i>	<i>Momento estadístico</i>
<i>Independiente</i>	<i>Funciones de convolución-deconvolución</i>
<i>De difusión</i>	<i>Función de potencia</i>
<i>Estocástico</i>	<i>Función de densidad</i>

Clásicamente, el sistema compartimental ha sido el empleado como modelo de trabajo. Consiste en un número finito de subsistemas llamados compartimentos. Se basan en sistemas físico-químicos de transferencia de materia (de fármaco, más concretamente), regidos por constantes de velocidad, con otros compartimentos y con el entorno. La variación de la cantidad de fármaco dentro del compartimento puede caracterizarse mediante un sistema de ecuaciones diferenciales de primer orden. Se ha reiterado que al proceso de desarrollo le acompañan cambios sustanciales en la composición y proporciones corporales. En definitiva, la alometría no es más que el estudio del tamaño y sus consecuencias (Boxenbaum, 1984) y de toda una serie de cambios de forma que llevan aparejados ciertos hechos notorios relacionados con la proporcionalidad. Muchas características estructurales y funcionales se correlacionan con el tamaño. En consecuencia,

tanto la estructura (anatomía) como el funcionamiento (fisiología) de un organismo se verán condicionados. De este modo, las especies de mayor tamaño modificaron su perfil para lograr una funcionalidad vital semejante a la de sus congéneres de menor tamaño. Los animales de mayor altura no son mayores porque sean más complicados, son más complicados porque son mayores (Haldane, 1928). Especies distintas de tamaños diferentes se organizan siguiendo un patrón común (a lo que se conoce como *Filum*, por ejemplo, los mamíferos). Ello es posible gracias a la tendencia al cambio alométrico regular de las proporciones anatómicas de modo que se logran así funciones comparables. Esto es así incluso en situaciones patológicas, en las cuales el tamaño de un órgano, independientemente del agente etiológico, puede verse aumentado (hipertrofia) o disminuido (atrofia).

La Terapéutica Veterinaria ha de enfrentarse a una enorme diversidad de especies susceptibles de ser tratadas, aún si sólo tuviéramos las domésticas en consideración. Por otra parte, los veterinarios dedicados a la práctica de la clínica, sea del tipo que sea, disponen de una amplia variedad de fármacos aprobados para un uso concreto. De acuerdo con la legislación vigente, todos los productos han de presentar una formulación claramente especificada que en síntesis irá acompañada de información acerca de la dosis, posología, vía de administración e indicaciones sobre la seguridad, sin olvidar la(s) especie(s) de destino (Ley 109/95). Pero a menudo se presentan situaciones, complicaciones surgidas a la hora de administrar un tratamiento a un paciente, en las cuales puede:

- Existir un vacío terapéutico, sin compuestos aprobados para un uso o especie concretos. El incremento de la atención a especies consideradas como exóticas o salvajes se ajusta a este supuesto.
- Darse una ausencia de datos farmacocinéticos que permitan el establecimiento de una dosificación con su correspondiente pauta. Es limitado el número de especies en las que se llevan a cabo estudios farmacocinéticos.

Entre las posibles alternativas que a la Terapéutica Veterinaria se le brindan ante los supuestos planteados, tres son las que abarcan casi por completo el repertorio de posibilidades:

- a.* Empleo de fármacos diseñados para otros usos clínicos.
- b.* Aplicación de especialidades destinadas a otras especies.
- c.* Recurso a medicamentos aprobados en el área humana.

Llegado a este punto, al profesional se le plantea la cuestión, para cualquiera de las tres posibles alternativas, de cuál es la dosis que ha de aplicar. A menudo, se extrapolaba la dosis (y continúa haciéndose) tendiendo

a una posología ya establecida para otro uso terapéutico o para otra especie, incluso la humana, valorando únicamente el peso vivo del individuo.

De acuerdo con esto, las extrapolaciones que como partida toman este fundamento se basan en que los animales entre sí y para el hombre sirven como modelos de procesos biológicos. De ahí que las relaciones dosis-respuesta a un compuesto se establezcan linealmente por el peso corporal. Del mismo modo, los pesos de los órganos se relacionan cuantitativamente con el peso corporal (P) de acuerdo con la ecuación alométrica $P=mW^n$, siendo m un coeficiente característico de la función, W el peso del órgano y estando el exponente n alrededor de 1. Excepción notable es el cerebro, del que nos ocuparemos más adelante. Con una pendiente de valor 1 se enfrentan los valores del logaritmo de la dosis y del peso, cuando la intensidad del efecto biológico permanece constante (Davidson y cols., 1986).

Desgraciadamente, esta relación lineal directa no se ajusta al comportamiento de numerosos principios activos. Citaremos como ejemplo clásico el conocido como *elephantine fallacy* (Harwood, 1963) recogido por Schmidt-Nielsen (1970) y Calabrese (1983) acerca del experimento llevado a cabo por West & Pierce (1962). Estos últimos, basándose en una extrapolación de acuerdo con una dosis de LSD en mg/kg aplicable al gato, administraron la cantidad correspondiente a su peso a un elefante, el cual falleció a los 5 minutos de la administración. Otros muchos estudios, tanto de índole farmacológica como toxicológica, corroboraron la existencia de excepciones (Rall & North, 1953; Pelikan, 1959; Lamanna & Hart, 1968; Dixon 1976).

El avance en el conocimiento tanto de la alometría como de la farmacocinética, junto a la escasa fiabilidad de este sistema, empujaron a la búsqueda de soluciones alternativas.

II.4.4. Escalaje alométrico. Aplicación en Farmacocinética

El comportamiento de un fármaco depende fundamentalmente de ciertas funciones fisiológicas. El *escalaje* alométrico se basa precisamente en la asunción del principio de la existencia de semejanzas anatómicas, fisiológicas y bioquímicas entre los animales; más aún, en que existe una estrecha relación entre tamaño y Farmacocinética, de modo que el primero condiciona a la segunda. Por ello, los parámetros que definen el comportamiento farmacocinético de los distintos compuestos podrían ser

sometidos a un ajuste (*escalaje*) entre varias especies animales, aplicando los diferentes tipos de estrategias alométricas sobre los diferentes modelos farmacocinéticos. Es posible así predecir la cinética de determinados fármacos en ciertas especies y por ende ayudar al cálculo de los regímenes de dosificación.

La asunción de estas semejanzas choca en ocasiones con uno de los principios fundamentales en farmacología y toxicología, a saber, que la concentración plasmática de un compuesto debería relacionarse directamente con el efecto del mismo (Sheiner & Tozer, 1979), pues ciertas peculiaridades dan al traste con la premisa anterior.

II.4.4.1. Criterios y sistemas generales

Ya hemos insistido en la influencia que el tamaño ejerce, entre otros aspectos, sobre numerosas funciones fisiológicas o la conformación anatómica de ciertos órganos o sistemas. El fundamento de la extrapolación o *escalaje* se apoya en la coincidencia de las características anatómicas y la universalidad de las funciones fisiológicas y de las reacciones bioquímicas, pese a la gran variedad de tamaños, perfiles y formas entre las especies de mamíferos (Davidson y cols., 1986). De todo lo anteriormente expuesto puede inferirse que las relaciones cuantitativas que existen entre las especies de vertebrados para funciones morfológicas y fisiológicas pueden ser descritas por ecuaciones alométricas (Davidson y cols., 1986). Estas ecuaciones se originan, naturalmente, a partir de sistemas alométricos, que a su vez obedecen a criterios de relación entre distintos parámetros fisiológicos (peso, superficie, tasa metabólica,...) y el parámetro (en nuestro caso farmacocinéticos) en estudio.

La realización de este tipo de estudios es susceptible de admitir varios enfoques, los cuales quedan a juicio del investigador. En una primera aproximación, podrían ser clasificados atendiendo a la complejidad del criterio aplicado:

Criterios simples. La variable dependiente se estudia en función de una única variable independiente, propia de cada individuo o especie. Esta variable independiente puede ser de origen anatómico o morfológico:

- Peso.
- Peso cerebral.

ó bioquímico-fisiológico:

- Superficie corporal.
- Tasa metabólica.

Las ecuaciones son del tipo:

$$\text{Variable Dependiente} = k \cdot X^n$$

Criterios biexponenciales.

- Esperanza máxima de vida.

Corresponden a ecuaciones del tipo:

$$\text{Variable Dependiente} = k_1 \cdot X_1^{n_1} + k_2 \cdot X_2^{n_2}$$

Criterios triexponenciales.

- Coeficiente de regresión.

A su vez, ajustadas a la ecuación:

$$\text{Variable Dependiente} = k_1 \cdot X_1^{n_1} + k_2 \cdot X_2^{n_2} + k_3 \cdot X_3^{n_3}$$

II.4.4.1.1. *Peso corporal y peso cerebral*

Desde el punto de vista onto y filogenético, los cambios a cualquier nivel en el tamaño de los seres vivos tienen consecuencias tanto estructurales como funcionales. Por ello, siendo el tamaño una de las variables que más poderosamente condiciona las características que definen a cualquier ser vivo, un número considerable de aquellas (morfológicas, fisiológicas, bioquímicas, farmacocinéticas) pueden ser halladas en función del peso corporal (Calder III, 1984; Schmidt-Nielsen, 1984). La intuición de las observaciones iniciales dejó paso a las primeras mediciones, pero la materialización de un sistema de medición que permitiera una cuantificación de los cambios alométricos no surgió hasta el siglo XX. Se relacionaba una variable dependiente, Y , con una independiente, X , que en principio sería el peso corporal, mediante la expresión:

$$Y = bX^a$$

En la función considerada, a , el exponente, puede tener diferentes valores:

$a > 0$ *Relación directa.* La función aumenta cuando lo hace la variable independiente.

▪ $a = 1$ *Relación directa de proporcionalidad.* El volumen de sangre es proporcional al peso.

▪ $a > 1$ *Relación directa favorable a la variable dependiente.* El esqueleto de los animales grandes es proporcionalmente más pesado que el de los pequeños.

▪ $0 < a < 1$ *Relación directa favorable a la variable independiente.* La tasa metabólica se incrementa en mayor medida cuanto menor es el peso.

$a=0$ Relación neutra. La variable dependiente no cambia con respecto a la independiente: La concentración de hemoglobina en sangre de mamíferos.

$a<0$ Relación inversa. Disminuye la función si se incrementa la variable independiente: Los latidos cardíacos de los mamíferos.

El caso especial en el que el exponente de la ecuación alométrica es igual a 1 recibe el nombre de isometría o semejanza geométrica; las proporciones entre las variables permanecen constantes independientemente del cambio de tamaño.

Resulta evidente que existe una amplia muestra de leyes físicas, dependientes del tamaño, que dictan muchas, si no la mayoría, de las características del diseño en mamíferos (Lindstedt & Thomas, 1994).

Probablemente fue Adolph (1949) el primero en advertir que numerosas variables anatómicas y fisiológicas podían ser correlacionadas, entre los mamíferos, como funciones exponenciales del peso corporal. Calculó un buen número de ecuaciones que relacionaban, precisamente, propiedades cuantitativas y peso corporal. Algunas de aquellas fueron calculadas de nuevo y propuesta alguna distinta (Schmidt-Nielsen, 1984). Las variables anatómicas resultaron prácticamente proporcionales al peso corporal (Dedrick, 1973), de modo que el exponente de las ecuaciones se acercaba a 1, como en el caso de los pesos del corazón, pulmones, sangre y hemoglobina. En otros casos, el exponente se alejaba un tanto (riñones o hígado, por ejemplo).

El peso corporal no es la variable independiente primaria, pero entra en la farmacocinética de la mano de la alometría a través de su correlación con los flujos sanguíneos y los aclaramientos (Dedrick, 1973). De todo ello se infiere que para aquellos parámetros cinéticos en cuyo cálculo influya, directa o indirectamente, el peso de un órgano cualquiera, podrá esperarse una elevada correlación alométrica.

El caso más llamativo es el del cerebro, cuyo exponente se desvía situándose en un valor cercano a 0,70. Ello no resulta de extrañar dado que el desarrollo del cerebro como índice evolutivo no es función del tamaño, sino que depende del número de circunvoluciones o de enlaces interneurales. Por este motivo, el peso cerebral se emplea como variable independiente cuando el parámetro en estudio (variable dependiente) puede estar afectado por el lugar en el desarrollo evolutivo de la especie. Resulta

evidente que el exponente con el que se relacionan peso corporal y cerebral no permite esperar una correlación semejante (ver 4.4.1.3.).

Y sin embargo, a grandes rasgos, podemos afirmar que el tamaño del cerebro presenta una fuerte correlación positiva con el tamaño corporal. No obstante, la simple división del peso del primero por el del segundo resulta un dato poco fiable, pues este índice disminuye con el peso corporal. Los animales más pequeños poseen cerebros relativamente mayores, por lo que se explica que el porcentaje del peso del cerebro respecto al peso corporal total suponga un 10% y un 2%, respectivamente, en el ratón y en el hombre. En este sentido, resulta de más utilidad el coeficiente de encefalización (CE), cuyo valor se obtiene mediante la siguiente fórmula:

$$CE = M_{\text{cerebro}} / M_{\text{cerebro corregida}} \qquad M_{\text{cerebro corregida}} = k M_{\text{corporal}}^p$$

La masa del cerebro corregida, sería el peso cerebral esperable para un mamífero con una masa corporal dada. La constante k (0,059-0,12) y el exponente p (0,67-0,75) varían de acuerdo con los autores. El coeficiente de encefalización provendría de la masa actual del cerebro (M_{cerebro}) dividida por la masa cerebral corregida ($M_{\text{cerebro corregida}}$).

Como resultado, es de sobras conocido el hecho de que son patentes las diferencias que tras el cálculo del mencionado coeficiente surgen entre los grupos zoológicos. En este sentido, Stahl (1965) recopiló los datos del peso de los principales órganos de primates, y al compararlos con los de otros mamíferos, encajaban perfectamente en la línea que la relación alométrica trazaba. Pese a ello, para el cerebro existe una notoria diferencia, pues los índices de encefalización de los primates se sitúan entre los más elevados dentro del reino animal. En definitiva, la escala obtenida tras la aplicación de los criterios anteriores tampoco arroja luz sobre la posible relación peso cerebral-comportamiento farmacológico.

II.4.4.1.2. *Superficie corporal y tasa metabólica*

El uso de estos dos criterios se basa en la *Ley de las Superficies*: el metabolismo basal, expresado por unidad de superficie corporal, es constante en los vertebrados homeotermos.

Rubner (1883) exploró la relación de la tasa metabólica basal en perros de distintos pesos y tamaños, encontrando que dichos parámetros se relacionaban de forma inversamente proporcional. Además, halló una

relación prácticamente constante para todas las razas entre tasa metabólica y área de superficie corporal. A conclusión semejante llegaría Voit en 1901. El valor del exponente, (a) que relacionaba la tasa metabólica basal con el peso era constante e igual a 0,75.

Por otro lado, la información recopilada para numerosos vertebrados se concretó en una relación para el área superficial, función del peso corporal, con variaciones no superiores al 20% (Kleiber, 1947). Otros autores establecerían relaciones en las que se buscaba mejorar la precisión de los cálculos introduciendo parámetros como la altura o el perfil (Meek, 1879; Dubois & Dubois, 1916; Boyd, 1935).

$$\text{Área de Superficie Corporal} = k W^{0,67}$$

Si asumimos que la tasa metabólica es función del área superficial, y ésta a su vez es función del peso corporal, podemos inferir que la tasa metabólica basal es función del peso corporal (Davidson y cols., 1986) de acuerdo con la fórmula:

$$\text{Tasa metabólica basal} = b W^{0,75}$$

Siendo W el peso corporal, b el coeficiente independiente de la especie y n el exponente, de valores diferentes según los autores (Kleiber, 1932; Benedict, 1938; Brody, 1945; Adolph, 1949), pero próximos a 0,75.

Los argumentos a favor de este criterio se basan en la relación entre la superficie corporal y varios parámetros fisiológicos como el gasto cardíaco, volumen sanguíneo, volumen extracelular, etc. De acuerdo con esto, y teniendo en cuenta que la superficie corporal es proporcionalmente mayor que el peso cuanto menor es el tamaño del sujeto, las dosis calculadas serán, en consecuencia, también proporcionalmente mayores que las calculadas únicamente en función del peso corporal (Guerra, 1999). Si bien esto es cierto, existen una serie de problemas que ponen en tela de juicio este método. Entre éstos, cabe citar el papel del sistema neuroendocrino en la regulación del metabolismo energético, la dificultad que entraña la evaluación de la superficie corporal para especies diferentes o las variaciones que para el cálculo de aquélla pueden hallarse según la fórmula aplicada.

II.4.4.1.3. *Esperanza media de vida*

En ciertos grupos zoológicos tiene lugar un fenómeno trascendente desde el punto de vista evolutivo, la neotenia. Consiste en la adquisición de la

madurez sexual en fases de desarrollo de formas larvarias o juveniles. La esperanza media de vida (*MLP*, siglas de la denominación en inglés, Mean Life-span Potential) es el tiempo promedio característico que se prolonga la vida de una especie y se basa en el concepto de neotenia (Boxenbaum, 1984), que se define como la retención de caracteres juveniles en los descendientes adultos como resultado de un retardo en el desarrollo somático (Gould, 1977, citado por Castells, 2001). Sólo el hombre, ejemplo típico de neotenia, se desvía de la norma dentro del linaje mamífero debido a su longevidad.

Este criterio pone el acento en el aspecto evolutivo de la alometría, de modo que las posibles diferencias entre grupos (*Filum*) puedan ser calibradas a través de un sistema uniforme. Mediante esta aproximación, que también trata de mejorar la capacidad predictiva de la alometría, se calcula el valor de MLP (en años) obtenido a partir de la ecuación descrita por Sacher (1959):

$$MLP=185,4 \times \text{Peso cerebral}^{0,636} \times \text{Peso vivo corporal}^{-0,225}$$

El incremento del peso del cerebro podría ser, como anteriormente hemos comentado, ya un indicador de la capacidad de control *cibernético* del organismo, de la adquisición de habilidades, ya un reflejo de comportamiento social, por lo que no debería esperarse que sostuviera relación alguna con las tasas de disposición farmacológicas.

Por otro lado, el incremento de tamaño del organismo aumenta las oportunidades del ser vivo para explotar los recursos del medio. Y dada la importancia de ambos, peso cerebral y tamaño corporal, no es sorprendente que las relaciones implicadas con los dos representen el mejor recurso disponible para relacionar matemáticamente las semejanzas y *regularidades* farmacocinéticas interespecies (Boxenbaum, 1984).

Desgraciadamente, estas aproximaciones resultan extremadamente simplistas y plantean aún más dudas acerca del comportamiento de un fármaco antes que lograr una explicación convincente. Su naturaleza impide sopesar el papel de la evolución en general, y para cada grupo en particular, las diferencias estructurales o el desarrollo de cada especie en concreto. Por ejemplo, desde el punto de vista del desarrollo, la especie humana posee mayores cerebros gracias a su crecimiento postnatal, mucho mayor de lo que cabría esperar. A través de la ecuación descrita (Sacher, 1959) el peso cerebral y el corporal fueron correlacionados con la esperanza máxima de vida siendo recogidos, aunque de modo imperfecto, todos los factores relevantes.

De acuerdo con los motivos expuestos (Boxenbaum, 1980), el parámetro que mejor calibra la capacidad del organismo para *rechazar el ataque* de los xenobióticos (o fármacos) ingeridos es el aclaramiento intrínseco de la fracción libre de principio activo (Boxenbaum, 1982a). Así, Mahmood & Balian (1996a y c) emplearon el producto del peso cerebral y el aclaramiento para mejorar la capacidad predictiva del escalaje alométrico del último (ver 4.4.3.1.)

II.4.4.1.4. *Coefficiente de regresión*

Se ha utilizado principalmente en estudios a gran escala de principios tóxicos con el objetivo de establecer la posibilidad de extrapolación de los datos toxicológicos de animales al hombre “medio” (Krasovskij, 1975, 1976) mediante el ajuste de la dosis letal a una ecuación alométrica. Este tipo de estudios asume que resulta válida la extrapolación de los datos biológicos de los animales al hombre.

Se lleva a cabo atendiendo a tres criterios: equivalencia del peso corporal, *escalaje* “calórico” y empleo del área de superficie corporal (Vocci & Farber, 1988). La extrapolación predictiva de los datos obtenidos de 4-6 especies animales al hombre se realizaba aplicando los coeficientes de regresión para estos tres factores, con lo que se disminuye el error.

El coeficiente de regresión de las ecuaciones oscilaba, para diferentes compuestos tóxicos, entre 0,62-0,81, y en estudios más recientes, se consiguieron valores próximos a 1 (Sample & Arenal, 1999). En general los valores mejoran cuando se aplican en aves frente a mamíferos, en los que un 15-20% de los compuestos estudiados no se ajustaba satisfactoriamente ni mediante extrapolación directa ni en función del área superficial, mostrando una gran variabilidad.

II.4.4.2. *Incorporación del escalaje a un modelo farmacocinético*

Los dos principales métodos de extrapolación son conocidos como *aproximación fisiológica* (Gerlowski & Jain, 1983; Rowland, 1985) y *aproximación alométrica* (Boxenbaum, 1980, 1986; Rowland, 1985), si bien ambos son, de forma genérica, métodos que incorporan el escalaje alométrico a los modelos de análisis farmacocinéticos fisiológico y compartimental, respectivamente.

El modelo farmacocinético fisiológico representa la evaluación de la disposición de un fármaco mediante una aproximación mecánica (Mahmood, 1999; Martín-Jiménez, 1999). Se basa matemáticamente en un sistema diferencial de balance de masa que describe la entrada-salida, acumulación y desaparición del medicamento en el organismo y en estos órganos y tejidos. Fundamentalmente diferente (Mordenti & Chappel, 1989), surge como alternativa a los modelos compartimentales clásicos, con los que comparte con ellos el objetivo de tratar de definir y predecir el comportamiento cinético de los fármacos en el organismo.

Se trata de modelos complejos que para estimar la evolución de los niveles de una sustancia se sirven de información anatómica, fisiológica y bioquímica específicas del sistema estudiado, pues en definitiva los diferentes procesos farmacocinéticos vienen definidos por dicha información. Como su propio nombre indica, los modelos fisiológicos están basados en el flujo fisiológico. Distinguimos dos tipos teóricos:

- *Modelo fisiológico integral*, que considera todos y cada uno de los órganos y tejidos del ser vivo.
- *Modelo simplificado (no integral)*, que no disponiendo de toda la información, emplea sólo los datos implicados en la disposición cinética para construir el modelo.

El modelo fisiológico ha sido usado con éxito para describir situaciones donde la cinética farmacológica no es de dinámica lineal, bien por saturación de los sistemas de metabolización, bien porque la respuesta biológica no es función de la concentración plasmática libre o unida a proteínas (la unión a proteínas es fuerte y/o no lineal). Otras situaciones que aconsejan su elección como método son que la distribución juegue un importante papel en la acción farmacológica, que la acción del principio activo suceda en un lugar distinto al compartimento central, que la sustancia sea altamente liposoluble y altamente metabolizada, o, finalmente, que el comportamiento cinético del fármaco pueda ser evaluado solamente en una especie animal (Mordenti, 1986). Se trata de un campo de enormes posibilidades, del cual se trata de evaluar su potencial predictivo (Iwatsubo y cols., 1997; Obach y cols., 1997; Mahmood, 2002).

El desarrollo de un modelo fisiológico requiere un diseño que contempla una serie de puntos:

1. Recopilación de información sobre parámetros que intervengan en la cinética del fármaco en estudio; su clasificación

depende de los autores consultados (Himmelstein & Lutz, 1979; Hildebrand, 1994; Ritschel & Banerjee, 1986; Pedraz y cols., 1990). Siguiendo a González (1996) encontramos que la información precisa es de índole anatómica, fisiológica y bioquímica, termodinámica y de transporte.

2. Diseño del modelo.

2.1. Establecimiento de un diagrama de flujo con la disposición de los distintos órganos o tejidos.

2.2. Ecuaciones de balance de masa para cada uno de los órganos o tejidos.

3. Diseño de la experiencia. Toma de datos.

4. Estimación de los parámetros dentro del intervalo establecido. Para los modelos fisiológicos, el valor de los parámetros deberá atenerse al rango establecido.

5. Comprobación del ajuste de los datos observados (experimentales) y esperados (modelo propuesto). Validación y extrapolación del modelo mediante la simulación de las curvas de niveles del fármaco en los tejidos.

Otros autores simplifican este modelo y sólo consideran dos fases: a) Selección de las regiones corporales del modelo y b) Formulación de las ecuaciones matemáticas (Doménech y cols., 1997).

Ya definido y validado el modelo para un fármaco determinado en una especie concreta, aquél puede extrapolarse a otras especies animales. Dicha extrapolación se lleva a cabo sustituyendo los valores de volúmenes de tejidos, flujos sanguíneos, constantes de transferencia y otros parámetros relacionados con la incorporación y/o eliminación del fármaco por los correspondientes a la especie animal en la que se quiere predecir el comportamiento cinético. Las vías de obtención de datos vuelven a ser la revisión bibliográfica, la determinación experimental y la extrapolación alométrica. El escalar un modelo fisiológico de una especie a otra requiere una consideración detallada de las similitudes y diferencias existentes entre los distintos organismos (D'Souza & Boxenbaum, 1988).

Como ventajas, este modelo proporciona una base más racional que la de los modelos farmacocinéticos clásicos para el estudio y caracterización de procesos cinéticos, facilita y optimiza la extrapolación de datos experimentales obtenidos de animales al hombre y, por último, posibilita la contemplación de la influencia de las modificaciones del proceso fisiológico en el comportamiento cinético. Como inconvenientes, el requerimiento de un elevado número de datos experimentales que permitan verificar el modelo

y la complejidad del tratamiento de los datos; la consecución suele implicar unos elaborados y costosos gastos, tanto económicos como de tiempo (González, 1996).

La *aproximación alométrica* está relacionada con los modelos farmacocinéticos clásicos y los parámetros que los definen y se basa en la relación empírica que se establece entre determinados parámetros cinéticos y el peso corporal de la especie en la que se determinó el mismo parámetro. (Doménech, 1997). Existen métodos basados en este acercamiento alométrico básico, más complejos, que incorporan como variables independientes el peso cerebral y la esperanza máxima de vida. Un último sistema de mejora de la precisión de los cálculos alométricos aboga por la “normalización” del tiempo cronológico, convirtiéndolo en tiempo biológico, fisiológico o tiempo equivalente farmacocinético (Lindstedt & Calder, 1981; Mordenti, 1986).

De manera general, cuando se plantea un estudio de *escalaje* interespecífico de parámetros farmacocinéticos utilizando un modelo alométrico, han de seguirse los pasos siguientes (Mordenti, 1986):

1. Determinar los parámetros farmacocinéticos, preferentemente tras administración intravenosa única a la dosis terapéutica recomendada, al menos en cuatro especies diferentes, ya sea por métodos compartimentales como no compartimentales.
2. Realizar el escalaje de los parámetros farmacocinéticos mediante un análisis de regresión lineal de la relación entre el peso corporal y el valor del parámetro en una escala logarítmica a fin de obtener las ecuaciones alométricas para cada parámetro. De ser preciso, puede incorporarse al análisis cualquier parámetro fisiológico que se considere oportuno, (peso del cerebro, longevidad, superficie corporal, etc.) o sustituir al peso corporal.
3. Estudiar la corrección de las relaciones obtenidas mediante los métodos estadísticos adecuados, contrastándolos después con la bibliografía disponible.
4. Solucionar las ecuaciones alométricas obtenidas incorporando la media del peso de la especie de la que se desea conocer el valor del parámetro.
5. Utilizar los valores de los parámetros obtenidos alométricamente para una especie no estudiada experimentalmente y elaborar las ecuaciones que describan la posición del fármaco en la misma.

6. Comprobar, mediante el estudio *in vivo* de la especie de destino o bien a partir de datos obtenidos de la literatura, la idoneidad de la ecuación.

La realización de un estudio alométrico no precisa conocer la distribución tisular con detalle, tan sólo las concentraciones plasmáticas de fármaco, siempre que se cumplan los siguientes requisitos (Sáez, 1996):

- Cinética de eliminación de primer orden (u orden conocido) en todas las especies abordadas en el estudio.
- Porcentaje de unión a proteínas plasmáticas lineal y similar entre especies en el intervalo de concentraciones empleadas.
- Procesos de eliminación basados principalmente en mecanismos físicos (excreción biliar, renal,...).
- Volumen de datos suficiente para generar unas regresiones adecuadas.

II.4.4.3. Escalaje de los parámetros farmacocinéticos

El aclaramiento, volumen de distribución y semivida de eliminación son los parámetros farmacocinéticos más frecuentemente extrapolados (Mahmood, & Balian, 1999). Fisiológicamente, el aclaramiento es considerado como parámetro farmacocinético de eliminación y el volumen aparente de distribución como parámetro farmacocinético que caracteriza la distribución; son parámetros independientes, y la relación entre ambos condiciona el valor de la constante de eliminación y de la semivida de eliminación del fármaco (Doménech y cols., 1997; Riviere, 1997). Los parámetros farmacocinéticos pueden ser dependientes de la dosis administrada (farmacocinética no lineal) o independientes de la misma (farmacocinética lineal).

Ciertos parámetros fisiológicos pueden ser expresados en función del peso, tomando diferentes valores en los exponentes. Existe un criterio general que relaciona el tipo de parámetro que ajustamos alométricamente con el valor del exponente (Lindstedt & Calder, 1981). Así, las ecuaciones alométricas de parámetros temporales (duración del ciclo cardíaco, esperanza de vida, semivida de un fármaco,...) presentan exponentes próximos a 0,25 y los ajustes de parámetros volumétricos (volumen de distribución de un fármaco) adquieren exponentes cercanos a la unidad:

$$T = k_1 \cdot W^{0,25}$$
$$V = k_2 \cdot W^{1,00}$$

Por ello, los parámetros que definen variaciones volumétricas en función del tiempo (rendimiento cardíaco o aclaramiento plasmático de un fármaco) se ajustan mediante exponentes alométricos próximos a 0,75 (1,00 - 0,75):

$$\begin{aligned} V/T &= k_2/k_1 \cdot W^{1,0}/W^{0,25} \\ V/T &= k_3 \cdot M^{0,75} \end{aligned}$$

No obstante, la predicción de dichos parámetros puede perfectamente no ser siempre todo lo ajustada que se espera y desviarse los valores observados de los esperados (Mahmood, 1999). Los exponentes alométricos farmacocinéticos carecen de significado fisiológico. Mas aún, su valor no es universal y depende de las especies empleadas en el *escalaje* (Mahmood, 1999). Los valores hallados (Mahmood & Balian, 1996a, b y c) para el aclaramiento oscilan entre 0,35-1,39, siendo la media de 0,78 - próximo a 0,75-. En la práctica no es correcto aplicar este exponente de forma sistemática, y su uso estaría justificado cuando sólo disponemos de datos de una sola especie.

II.4.4.3.1. *Aclaramiento*

El aclaramiento es el volumen de sangre o plasma depurado de una sustancia por unidad de tiempo. Por tanto, proporciona información sobre la capacidad del organismo para eliminar un fármaco y su variación puede ser reflejo de ciertas situaciones fisiopatológicas, en las que puede estar limitado, entre otros, por el flujo (gasto) cardíaco, el metabolismo (actividad enzimática) o la unión a proteínas (Toutain, 1999), o bien en casos de insuficiencia hepática o renal (Castells, 2001).

El aclaramiento sistémico medio es la suma de los aclaramientos de una determinada sustancia a través de las diferentes rutas implicadas en su eliminación, las cuales no son excluyentes entre sí, y que generalmente implican a los riñones y al hígado (Hayton, 1989), además de otros de valor más reducido, aclaramiento pulmonar, mamario, etc.

Tanto en el descubrimiento de nuevos principios activos como en el desarrollo de nuevos fármacos, el aclaramiento resulta referencia obligada y juega un papel crucial a la hora de determinar las dosis de ataque y mantenimiento; ello justificaría el interés en mejorar el rendimiento de la alometría para predecir este parámetro.

El aclaramiento puede predecirse mediante distintos acercamientos y sistemas (Mahmood & Balian, 1996a, b y c; Mahmood, 1999; Mahmood & Balian, 1999):

- A través de la alometría simple, que expresa el aclaramiento en función del peso:

$$Cl = aW^b$$

- Aplicación de una ecuación alométrica exponencial basada en el peso cerebral y el peso de las especies. Aproximación sugerida por Boxenbaum & Fertig (1984) en la que los pesos cerebral y corporal son aplicados en una ecuación para predecir el aclaramiento intrínseco de fármacos eliminados principalmente mediante metabolismo oxidativo:

$$Cl = k \cdot \text{Peso corporal}^a \cdot \text{Peso cerebral}^b$$

donde k es el coeficiente y a y b son los exponentes de la ecuación alométrica.

- Ajuste alométrico del producto del aclaramiento por el peso cerebral. La propuesta de este método proviene de Mahmood & Balian (1996, a y b). Multiplican el aclaramiento por el peso cerebral y lo representan en escala logarítmica frente al peso corporal:

$$Cl \cdot \text{Peso cerebral} = k \cdot \text{Peso}^b$$

La elección del método alométrico se realiza en función de la precisión del sistema, que a su vez se basa en el valor de los exponentes (Mahmood, 1999; Mahmood & Balian, 1999). Mahmood & Balian (1996a, b y c) propusieron para el hombre emplear como referencia los exponentes de la ecuación alométrica simple y de acuerdo con los valores obtenidos en el exponente, proceden de la siguiente manera para obtener el mejor ajuste:

- Si el exponente de la alometría simple se encuentra entre 0,55-0,70, la mejor predicción proviene precisamente de la alometría simple.
- Si el valor hallado oscila entre 0,71-1,0, el mejor ajuste proviene del escalaje alométrico del producto del aclaramiento por la esperanza media de vida (Cl x MLP).
- Finalmente, si el valor del exponente supera la unidad lo más adecuado es escalar el resultado de la multiplicación del aclaramiento y el peso cerebral (Cl x Peso cerebral).

No obstante, no se trata de una regla fija. En ciertos casos, y para valores situados en el límite de las divisiones propuestas, el resultado puede no ajustarse. Igualmente sucede para los exponentes mayores de 1,3 o inferiores a 0,55.

En resumen, la alometría simple no es adecuada para cualquier fármaco en la predicción del aclaramiento del fármaco total y no unido a proteínas. La incorporación del MLP y peso cerebral basados en los exponentes de la alometría simple mejoraban la predicción del Cl (Mahmood, 2000).

Mencionar, por último, la existencia de un sistema de ajuste no del todo bien comprendido, conocido como *alometría vertical*, sobre el que numerosas cuestiones quedan por resolver (Mahmood & Balian, 1999), y en el cual, de forma sistemática, los valores reales resultaban netamente inferiores a los predichos (Calder, 1984).

II.4.4.3.2. *Volumen de distribución*

El volumen de distribución es aquel volumen corporal acuoso en el que se puede disolver una cantidad determinada de fármaco. Relaciona, en el supuesto más sencillo (modelo monocompartmental, dosis única, bolus intravenoso), la cantidad de fármaco en el organismo y la concentración del fármaco en plasma, determinados en el mismo tiempo. Dado que la medida de la concentración plasmática puede llevarse a cabo en diferentes condiciones, distinguimos distintos volúmenes de distribución:

- V_c . Volumen de distribución del compartimento central. Mide la concentración plasmática a tiempo 0 en el compartimento central tras administración intravenosa. Faculta la obtención del aclaramiento.
- V_{ss} . Volumen de distribución en estado de equilibrio o *steady-state* (intercambio teórico entre compartimentos nulo). Independiente del aclaramiento. Evidencia las alteraciones de la distribución atribuibles a causas fisiológicas y resulta de gran ayuda para obtener la dosis apropiada de fármaco.
- $V_{\text{área}}$. Volumen de distribución en estado de pseudo-equilibrio (redistribución del compartimento periférico al central). Relaciona cantidad y concentración plasmática de fármaco durante la fase de eliminación. Se relaciona directamente con el aclaramiento. Se emplea en la elaboración de pautas posológicas.

El volumen de distribución en el compartimento central (V_d_c) puede, en determinadas fases del ensayo clínico, jugar un papel fundamental a la hora de establecer la seguridad o la toxicidad de la dosis inicial de administración en el hombre (Mahmood, 1999). Puede calcularse a partir de la concentración inicial de fármaco y la cantidad de dicho fármaco en el organismo del mismo.

El $V_{d_{ss}}$ representa la estimación preferida del volumen de distribución para estudios sobre disposición entre especies pues se considera la estimación más robusta del volumen de distribución dado que es matemática y fisiológicamente independiente del proceso de eliminación (Riviere, 1999). Para el cálculo alométrico son indistintamente empleados tanto el volumen de distribución en el estado estacionario ($V_{d_{ss}}$) como los relativos al área ($V_{d_{área}}$) o a la constante de eliminación ($V_{d_{\beta}}$) (Mahmood & Balian, 1999).

Generalmente, el volumen de distribución, al ser función de la unión a tejidos, se relaciona directamente con la masa tisular y correlacionará bien con el peso corporal (Mahmood, & Balian, 1999). Por tanto, podrán llevarse a cabo buenas predicciones basadas en la proporcionalidad ($W^{1.0}$) ya que, como hemos visto, la relación volúmenes/peso corporal es generalmente isométrica y daría lugar a errores menores que los esperables para el aclaramiento o la semivida de eliminación (Mahmood, 1999). Existen excepciones, como el diazepam (Mahmood & Balian, 1996a; Martín-Jiménez, 1999).

Algunos estudios, por otra parte, han tratado de establecer la relación entre unión a proteínas plasmáticas y volumen de distribución de diferentes fármacos, tanto en animales como en el hombre (Mahmood, 2000), si bien no se observaron diferencias significativas. Sin embargo, Obach y cols. (1997) aplicaron cuatro sistemas distintos para obtener el ajuste del volumen de distribución en el estado estacionario y concluyeron que el sistema más eficaz era aquél que tenía en cuenta la unión a proteínas. No hay que olvidar que la capacidad de unión puede variar entre especies y refleja, a su vez, la composición y conformación de estas proteínas (Baggot, 1977; Riond & Riviere, 1989; Riond & Riviere, 1990). A menudo la unión a proteínas de un mismo fármaco puede diferir entre las especies escaladas, por lo que, al no existir relación alométrica entre capacidad de unión a proteínas y peso corporal, el *escalaje* para el volumen de distribución es complicado (Lin, 1995; Castells, 2001).

II.4.4.3.3. *Semivida de eliminación*

Entendemos por semivida de eliminación el tiempo preciso para que la mitad del fármaco administrado sea eliminado del organismo (Toutain, 1999). Desde el punto de vista cinético se trata de una constante de proporcionalidad entre la velocidad del proceso de eliminación del fármaco y la cantidad remanente en el organismo en cualquier instante considerado (Doménech y cols., 1997).

La semivida de eliminación no se encuentra directa y unívocamente relacionada con ninguna función corporal fisiológica, pero depende de muchas de ellas. Mediante su conocimiento son predecibles el grado de acumulación del fármaco, el tiempo preciso para alcanzar el equilibrio estacionario y el intervalo de dosificación. De ahí que pueda establecerse una pauta posológica a partir de su valor, pues conocido éste, nos aproximamos a la frecuencia de administración, pero sin olvidar la dosis, para cuyo cálculo resulta imprescindible el volumen de distribución. Por ello, su estudio resulta esencial para el desarrollo de fármacos seguros.

Resulta en cualquier caso un parámetro difícil de predecir entre especies (Mahmood, 1999). El ajuste alométrico de la semivida en función del peso corporal suele ser pobre, de ahí que la predicción que se obtenga se encontrará, en la mayoría de los casos, desviada (McNamara, 1991). No resulta extraño que sea así, pues al ser parámetro dependiente de muchos factores (metabolismo, filtración, secreción, excreción renal, etc.) resulta tremendamente complicado un ajuste exclusivamente en función del peso. Para fármacos excretados renalmente la semivida pudo ser calculada adecuadamente (Mahmood, 1998a y b). Sin embargo, para aquellos compuestos excretados tras metabolización más o menos intensa, la predicción resultó menos precisa o no pudo llevarse a cabo (Mahmood & Balian, 1996a; Mahmood, 1998a y b).

Se extrajo como conclusión que los fármacos cuyo mecanismo de eliminación es único se ajustaban mejor (por ejemplo, los aminoglicósidos, de excreción exclusivamente renal; β -lactámicos como ampicilina y amoxicilina, de excreción tubular) que los que presentaban eliminación por excreción renal tras metabolismo (por ejemplo, las sulfamidas) (Lashev & Pashov, 1992).

Para calcular más precisamente la permanencia de un fármaco en el organismo en los principios activos eliminados mediante metabolismo fue propuesto el ajuste del MRT en lugar de la semivida de β (Mahmood, 1998a).

En general, son esperables mejores resultados para la semivida de eliminación si existe excreción renal, y peores para metabolización hepática intensa, lo cual fue constatado por distintos autores, con fármacos que se ajustaban a cada una de las situaciones aludidas (Mordenti, 1985; Mahmood, 1998a y b; Mahmood & Balian, 1996a). Otros autores sugerían que las amplias variaciones en la semivida entre especies en relación al peso corporal se relacionaban con la variación en la tasa de filtración glomerular (Kirkwood & Merriam, 1990). Sin embargo, Riviere y cols. (1997) hallaron notables excepciones, de entre las cuales destaca, nuevamente, la del diazepam (Boxenbaum, 1982).

La semivida de eliminación puede ser extrapolada mediante la aproximación alométrica empleando la ecuación que la relaciona con el aclaramiento y el volumen de distribución. Siempre que los valores estimados de estos dos parámetros sean precisos, los resultados serán razonablemente ajustados (Mahmood, 1998b) principalmente en fármacos con baja unión a proteínas excretados por vía renal (Castells, 2001).

II.4.4.4. Predicción de los parámetros cinéticos a partir de datos *in vitro*

Los modelos *in vivo* e *in vitro* juegan un papel de distinto peso en los estudios farmacocinéticos preclínicos en la predicción del comportamiento de un fármaco (Zhou y cols., 2002). La predicción de parámetros cinéticos clásicos a partir de resultados obtenidos en experimentación *in vitro* ha tratado diversos aspectos, entre ellos, mejorar la predicción del cálculo alométrico. Así, Lavé y cols. (1997), investigaron la metabolización hepática *in vitro* de diez compuestos. La precisión del ajuste alométrico de los parámetros al corregirlos por los datos de los experimentos *in vitro* mejoró cuando, al menos, se empleaban tres especies.

A partir de los datos de 16 fármacos en los que existía una buena relación alométrica entre los valores de aclaramiento y el peso corporal, Mahmood (2002) realizó un estudio comparativo entre dos métodos de predicción para este parámetro. Así, realizó estudios en microsomas hepáticos humanos *in vitro* mediante dos modelos de precisión semejante entre sí: tubo paralelo y *well-stirred* y comparó los resultados con los del escalaje alométrico clásico a partir de la administración de los fármacos *in vivo*. De acuerdo con los resultados, el escalaje alométrico predijo más acertadamente el aclaramiento de los fármacos en el hombre aplicando la

regla de los exponentes (Mahmood & Balian, 1996 a y c) que el abordaje a través del estudio microsomal *in vitro*.

Por otro lado, en un estudio similar, Iwatsubo y cols. (1997) efectuaron un cálculo sobre la predicción del metabolismo farmacológico *in vivo* en hígado humano a partir de datos del metabolismo *in vitro*. Esta aproximación mediante *escalaje* se basó en datos procedentes de la literatura, resultando exitosas las predicciones para ciertos fármacos (p.e., verapamil, diazepam, lidocaína,...) aunque en otros casos se observaron grandes diferencias entre el aclaramiento *in vivo* versus aclaramiento corregido por los datos obtenidos *in vitro*. Estos resultados podrían ser debidos a ciertos factores, no considerados en los estudios *in vitro* (metabolismo tisular fuera del hígado, incorrecta asunción del equilibrio rápido del fármaco entre sangre y hepatocitos, presencia de transporte activo a través de la membrana sinusoidal y variabilidad interindividual), pero que pueden modificar el valor de los parámetros metabólicos.

II.4.4.5. Modelo alométrico de tiempo invariable

Se trata de un modelo alométrico aplicable a procesos que transcurren en función del tiempo, al igual que la disposición cinética de fármacos, basado en los conceptos de tiempo fisiológico y tiempo farmacocinético. Parte de la base de que los organismos poseen, para cada caso, (especie, familia, género,...) un sistema de *planificación temporal*, al cual se conoce como tiempo biológico o fisiológico (Carrel, 1931; Brody, 1945; Fisher, 1966). Los hechos que jalonan la vida de un individuo (crecimiento, reproducción, alimentación, hibernación, etc.) suceden de acuerdo con una escala de tiempo propia, íntimamente relacionada con su esperanza de vida media. Podría decirse que el tiempo cronológico, definido burdamente, es aquél medido por un reloj. Éste puede ser transformado en tiempo biológico, obteniendo de ello una variable independiente del proceso que se valora, de tipo temporal, que es, a la vez, independiente de la especie. La aplicación de esta transformación a la farmacocinética permite la comparación de los niveles plasmáticos de un fármaco para distintas especies animales en un mismo rango (Boxenbaum, 1982a).

El concepto sobre el que se sustenta este modelo atiende a la diferente acción que el tiempo puede tener sobre dos especies animales diferentes, a la distinta influencia de un mismo intervalo de tiempo absoluto. La longevidad es proporcional a la capacidad vital, y todos los mamíferos, si pudieran sobrepasar su vida natural, deberían sobrevivir aproximadamente la

misma cantidad de tiempo (Hickmann y cols., 1992). Resulta más evidente cuando se advierte que la esperanza media de vida de las especies animales pequeñas tiende a ser menor que la de los animales grandes. Las funciones vitales han de ser llevadas a cabo igualmente en todas las especies, lo que equivale a que las más pequeñas disponen de menos tiempo. En tiempo cronológico, a medida que se incrementa el tamaño del animal, decrecen las tasas cardíaca y respiratoria; sin embargo, independientemente de la escala fisiológica temporal y del tamaño, todos los mamíferos tienen el mismo número de latidos cardíacos y respiraciones a lo largo de su vida.

Asumiendo estas premisas, el tiempo cronológico es ajustado al tiempo fisiológico mediante una transformación. Por otra parte, los procesos fisiológicos y farmacocinéticos están biológicamente relacionados, regidos por ciertos mecanismos de sincronización, por lo que podríamos transformar el tiempo cronológico en un tiempo biológico (farmacológico) en función del tiempo requerido para completar determinados sucesos farmacocinéticos de forma especie-independiente.

Es decir, el tiempo se vive de forma diferente, y por tanto, ello debería influir en todos los procesos íntimamente ligados a él, como es el comportamiento cinético de los fármacos (Boxenbaum & Ronfeld, 1983) ya que en definitiva, la farmacocinética se define como el estudio de la evolución de las concentraciones de los fármacos en los organismos en función del tiempo. En este sentido, la concentración de un fármaco disminuye más rápidamente en los animales pequeños que en los grandes (Castells, 2001), lo que concuerda con el hecho de que los procesos fisiológicos tienen lugar más rápidamente y la esperanza de vida es más corta. En términos de parámetros farmacocinéticos, la semivida de eliminación para fármacos excretados renalmente en el ratón tiende a ser más corta que en el perro (medida en tiempo cronológico), pero ambas especies mostrarán una semivida semejante cuando ésta es expresada en latidos cardíacos (medida en *tiempo farmacológico* o *fisiológico*).

Numerosos autores argumentan que los procesos fisiológicos están ligados a un reloj interno biológico, el cual es función de la tasa metabólica basal (TMB) y del tamaño corporal. Como consecuencia de estas observaciones, aparece el término *tiempo fisiológico*, tiempo requerido para completar un suceso fisiológico independientemente de la especie.

Estas aproximaciones permiten ajustar el perfil de una gráfica en la que los ejes correspondan a los parámetros concentración y tiempo, transformando el tiempo cronológico en tiempo fisiológico. Cuando los

procesos fisiológicos en diferentes especies son medidos mediante tiempo biológico, aquéllos suceden en tiempo equivalente. De este modo, las concentraciones plasmáticas de ciertos fármacos en función del tiempo biológico, calculado como fruto del *escalaje* alométrico podrían superponerse. Dicho de otra manera, los perfiles múltiples de especies que enfrentan concentración frente a tiempo son traspuestos a un nuevo sistema de coordenadas, simple, de perfil invariable, independiente de la especie. A dicha transformación aplicada a la farmacocinética se conoce con el nombre de *tiempo farmacocinético* (Mordenti, 1985b; Castells, 2001). Dicha expresión tiene su antecedente en diversos estudios, cuyo análisis permitió establecer la Teoría de la Similitud Farmacocinética (Boxenbaum & Ronfeld, 1983; Castells, 2001), que resume todo lo anteriormente expuesto.

Dado que cualquier proceso que incluye el tiempo cronológico como dimensión es dependiente del tamaño (Calder, 1981), lo que Dedrick y cols. (1970) llevaron a cabo fue el *escalaje* del tiempo cronológico al tiempo farmacocinético. Para lograrlo, la ordenada de una representación gráfica convencional fue normalizada dividiendo la concentración plasmática (tras administración parenteral) por una dosis en mg/kg, y el tiempo cronológico era así convertido en tiempo fisiológico mediante diversas transformaciones. Se lograba así la superposición de las curvas de disposición (Boxenbaum, 1984).

Las expresiones correspondientes a cada uno de los ajustes mencionados se recogen en la siguiente tabla.

Tiempo equivalente. La aplicación en farmacocinética de la transformación del tiempo cronológico en tiempo biológico fue efectuada por primera vez en 1970 (Dedrick y cols.) mediante las fórmulas siguientes:

$$\begin{aligned} \text{Eje de ordenadas} &= \text{Concentración} / (\text{Dosis} / \text{Peso}) \\ \text{Eje de abscisas} &= \text{Tiempo} / \text{Peso}^{0,25} \end{aligned}$$

Mediante esta aproximación fueron obtenidas gráficas de concentración plasmática en función del tiempo para el metotrexato que podían superponerse en las cinco especies estudiadas. El fundamento teórico de la transformación se basa en las relaciones alométricas existentes entre volumen de distribución y aclaramiento (Boxenbaum & Ronfeld, 1983; Castells, 2001), de cuya observación se estableció empíricamente el exponente (0,25). A esta transformación se le denominó tiempo equivalente.

Kalinocrón y Apolisicrón. Posteriormente, Dedrick introdujo dos unidades adicionales de tiempo farmacocinético representadas semilogarítmicamente: los kalinocrones y los apolisicrones. El uso de los kalinocrones como unidad

de tiempo dio lugar al sistema de transformación alométrica, también conocido como ajuste elemental de Dedrick (Boxenbaum, 1984; Castells, 2001), mientras que el segundo se aplica en el ajuste complejo del mismo autor (Boxenbaum & Ronfeld, 1983).

El uso de estas dos transformaciones, al igual que el tiempo equivalente, se basa en las relaciones alométricas del Vd y Cl, pero en este caso los exponentes se calculan de forma matemática. Para llevar a cabo la transformación del tiempo se ajustan primero alométricamente ambos parámetros cinéticos, de acuerdo con las siguientes fórmulas:

$$Cl = \beta_1 W^{a_1} \qquad Vd = \beta_2 W^{a_2}$$

El ajuste elemental puede únicamente ser aplicado cuando el volumen de distribución es directamente proporcional al peso corporal (es decir cuando el exponente alométrico de dicho parámetro sea 1).

Dieneticrón y Sindeticrón. En fecha posterior, Boxenbaum introdujo dos nuevas unidades de tiempo fisiológico, los dieneticrones y los sindeticrones. Las transformaciones del parámetro temporal, en estos casos, no se basan en relaciones alométricas simples de Vd y Cl, sino que incorporan otros criterios alométricos, como son el peso cerebral y la esperanza media de vida. Estas transformaciones, por tanto, se basan en que las variaciones farmacocinéticas entre especies no sólo se deben al diferente peso corporal, sino que en ellas también intervienen la capacidad metabólica y el gasto vital de energía (Boxenbaum, 1984 y 1986).

II.4.4.6. Farmacocinética de poblaciones

Se trata de una herramienta que permite estudiar las características básicas de la disposición de fármacos en una población. Ha evolucionado desde una aplicación primaria a la monitorización terapéutica de fármacos a jugar un importante papel en la farmacología clínica en general y en el desarrollo de fármacos en particular (Williams & Ette, 2000). Persigue el estudio de la variabilidad Inter- e intraindividual de las concentraciones séricas que alcanza un fármaco, así como los parámetros farmacocinéticos que las condicionan cuando se administra en regímenes de dosificación estándar a un grupo amplio de pacientes con características fisiopatológicas y clínicas definidas (Fernández de Gatta, 1996). En definitiva, la farmacocinética de poblaciones es un método alternativo cuyo objetivo es

recoger y analizar aquellos factores de variabilidad que escapan al análisis farmacocinético tradicional (Martín-Jiménez & Riviere, 2001 y 2002).

El método aplicado a los estudios de farmacocinética de poblaciones se lleva a cabo siguiendo los siguientes pasos (San Andrés, 2002):

1. Recogida de información farmacocinética relevante en pacientes que representan la población de interés a tratar con cierto principio activo.
2. Identificación y medida de la variabilidad durante el desarrollo y evaluación del fármaco.
3. Explicación de la variabilidad aludida en el punto anterior, identificando los factores demográficos, fisiopatológicos, ambientales, interacciones con otros fármacos, etc. que puedan alterar el comportamiento de dicho fármaco.
4. Estimación cuantitativa de la magnitud de la variabilidad inexplicable en la población de pacientes.

El estudio de la farmacocinética poblacional ha evolucionado desde un enfoque clásico al actual. Mientras antes se consideraba la población como una única especie, en la actualidad, y en estrecha relación con aquello que significan los estudios alométricos, se aborda el comportamiento cinético de un compuesto en n especies. A continuación, veremos sendos ejemplos de estudios farmacocinéticos poblacionales clásico y actual sucesivamente, para la FBZ.

En un estudio clásico de distribución poblacional de FBZ y OFBZ, por vías oral e intravenosa en caballos, se establecieron dos protocolos de administración: a) 8,8 mg/kg s.i.d. p.o. durante 3 días, más una única administración i.v. de 4,4 mg/kg el cuarto día; b) 4,4 mg/kg s.i.d. i.v. durante 4 días. Se aplicaron a tres grupos de caballos distintos: 1) Machos y hembras castrados de pura raza; 2) Hembras mestizas; 3) Animales de pura raza sometidos a entrenamiento. Los resultados sugerían una distribución log-normal tanto en el patrón de distribución en la población como en cuanto a las concentraciones de FBZ en plasma y orina. Además, se apuntaba a diferencias metabólicas entre animales mestizos y de pura raza (Chay y cols., 1984).

En un reciente análisis alométrico entre especies basado en una amplia revisión bibliográfica sobre la farmacocinética comparativa de 44 fármacos en animales domésticos y de laboratorio, la FBZ presentó una correlación intermedia, de los tres grupos en que se dividieron los fármacos;

atendiendo a 31 citas bibliográficas correspondientes a 8 especies distintas se halló un coeficiente de correlación semivida de eliminación-peso corporal (log-peso corporal) de 7,7; pendiente (b), 0,24; corte con el eje de ordenadas, (a) 3,8; r^2 y P (nivel de significación), 0,38 y 0,08, respectivamente. Por su parte, la OFBZ, con 3 citas alusivas a 4 especies presentó unos valores de 2,8 (coeficiente semivida de eliminación-peso corporal), 0,217 (b), 0,9 (a) 0,11 (r^2) y 0,66 (P) (Riviere y cols., 1997).

La aplicación de las nuevas técnicas de farmacocinética de poblaciones a los datos entre especies permite el desarrollo de modelos predictivos que tienen en cuenta la influencia de las condiciones clínicas entre dichas especies. Se describe la variabilidad total residual en la disposición del fármaco en términos de efectos fijos (series de variables y constantes medidos con relativa precisión que se correlacionan mediante el empleo de un modelo de regresión con los parámetros farmacocinéticos) y variables (cantidades desconocidas asociadas a la variabilidad interindividual en los parámetros farmacocinéticos y la variabilidad intraindividual en las concentraciones medidas de fármaco)(Martín-Jiménez y cols., 1998).

Los métodos empleados se dividen en paramétricos, no paramétricos y un tercero, aproximación no-paramétrica “suave” (Davidian & Gallant, 1992). El primer método de farmacocinética de poblaciones, y al mismo tiempo el procedimiento paramétrico más representativo, desarrollado y aplicado en clínica médica, se implementó a través de un programa informático conocido como NONMEM (*nonlinear mixed effects modelling*)(Beal & Sheiner, 1980). A través de un simple acercamiento en una sola fase son predecibles los datos farmacocinéticos en la especie humana para un nuevo fármaco a partir de datos obtenidos en animales, por muy escasos y dispersos que sean, empleando NONMEM (Weber & Harnisch, 1994).

Son identificadas subpoblaciones de individuos que pueden presentar diferencias en la cinética de fármacos o en las respuestas cinéticas/dinámicas. También posibilita la determinación de perfiles farmacocinéticos en poblaciones en las que se dispone de un escaso número de muestras por individuo (San Andrés, 2002).

La modelización a través de la farmacocinética de poblaciones puede ser empleada en la práctica clínica a través de dos vías: 1) Diseño de regímenes de dosificación para pacientes individuales de acuerdo con sus características clínicas; 2) Empleo como información *a priori* de los métodos de predicción bayesianos para mejorar la precisión de las predicciones en un

paciente del cual sólo pueden obtenerse unas pocas muestras de plasma. Pero quizá sea el uso de métodos farmacodinámicos/farmacocinéticos de poblaciones en animales de producción el que se vea mejorado a través del empleo de fármacos en el rebaño. La capacidad de estos métodos permite la obtención de información valiosa en grandes poblaciones en las que cada individuo se encuentra disperso y permite ahondar en el estudio de la terapia farmacológica en animales de abasto. Por lo demás, la utilidad de la farmacocinética de poblaciones ha quedado patente en diversos campos (estudios *in vitro* y pre-clínicos, ensayos clínicos, estudios específicos, evaluación de biodisponibilidad e interacciones, estudios mixtos farmacocinética-farmacodinamia, etc.).

En Medicina Veterinaria existe un campo adicional en el cual los estudios de población se ajustan potencialmente de manera ideal: la aplicación de esta metodología al estudio de la depleción de fármacos en tejidos y residuos de fármacos en animales de producción, así como el establecimiento de tiempos de espera ajustados a las condiciones clínicas y/o de producción de poblaciones y/o individuos (Martín-Jiménez & Riviere, 1998). La creciente preocupación y demanda social de una mayor seguridad alimentaria serían un caso concreto de aplicación (San Andrés, 2002).

Sin embargo, nuestro interés se centra en su aplicación al *escalaje* alométrico. Actualmente está introduciéndose el uso de esta disciplina en la predicción de los perfiles tiempo-concentración de un fármaco en una especie a partir de la estimación de las ecuaciones alométricas de cada parámetro (Castells, 2001). Tienden a efectuarse los estudios de alometría empleando un gran número de datos individuales de diferentes especies (Riviere y cols., 1997; Castells, 2001). De esa manera se cubren dos *vacíos* que el análisis farmacocinético tradicional no contempla como son, de un lado, la variabilidad interindividual, y por otro, introduce comparaciones interespecíficas en los estudios de farmacocinética de poblaciones, que clásicamente se venían llevando a cabo en una sola especie. A través del empleo de esta herramienta se contemplan factores clínicos intraespecíficos e interespecíficos.

II.4.4.7. Análisis crítico de la aplicación del *escalaje* en Farmacocinética

Si bien una inmensa mayoría de características biológicas pueden ser sometidas al ajuste alométrico, otras escapan al mismo, y de ello derivan algunas dificultades a la hora de llevar a cabo el ajuste de los parámetros

farmacocinéticos entre especies; en ciertas situaciones puede esperarse incluso que esta técnica no llegue a funcionar (Martín-Jiménez, 1999; Riviere y cols., 1997).

La aplicación de la alometría, en líneas generales, persigue la búsqueda de un patrón común en sus diferentes vertientes de aplicación. Para el campo de la Farmacología, mediante dicho patrón, uno de los aspectos notables es que trata de minimizar, homogeneizar las particularidades inherentes a cada especie. Pese a ello, a menudo esas cualidades escapan al *escalaje* y necesariamente condicionarán la efectividad de la técnica alométrica.

Una vez administrados, evidentemente, los fármacos no son compuestos inertes y su presencia en el organismo provoca una serie de alteraciones fisiológicas. Si de su acción se deriva como consecuencia la modificación de ciertos parámetros fisiológicos en una especie de forma particular que a su vez incidan en la disposición (función renal, flujo hepático sanguíneo), entonces el *escalaje* alométrico no funcionará. Otro punto a tener en cuenta relacionado con el fármaco es la dosis efectiva, que en alguna/s especie/s puede alcanzar una concentración que llegue a saturar los mecanismos de eliminación, por lo que obtendremos una farmacocinética no lineal que complicará una aproximación alométrica (Riviere y cols., 1997). Esto no supone un problema para la mayoría de las dosis terapéuticas, excepción hecha de aquellas rutas metabólicas ausentes o deficitarias en ciertas especies (por ejemplo, la glucoronidación en gatos), con lo que nos hallaríamos, nuevamente, frente al problema de las particularidades inherentes a cada especie.

En estrecha relación con los puntos anteriores, y determinante en lo que a la distribución y eliminación de un fármaco se refiere, la unión a proteínas, asociación reversible del medicamento a las proteínas de la sangre o tejidos, representa un papel fundamental a la hora de conocer la cinética de un fármaco. Sin embargo, resulta prácticamente imposible la extrapolación alométrica de la unión a proteínas (Riviere y cols., 1997). Existe una homología estructural y funcional entre especies con respecto a la albúmina sérica. Sin embargo, pequeñas diferencias secuenciales de sus aminoácidos impiden el establecimiento de relación alométrica alguna entre la unión a proteínas y el peso corporal. Se puede predecir que una diferencia en la unión a proteínas afectaría al aclaramiento, volumen de distribución y a la fracción libre de la dosis, la única capaz de interactuar con los receptores. Si el porcentaje de unión a proteínas se sitúa en torno al 90% o es superior, podría tener un efecto significativo sobre los fármacos eliminados por

mecanismos de "capacidad limitada". Para un mismo fármaco existen diferencias entre las especies, y por eso serán también diferentes la distribución y eliminación del mismo. Si bien la predicción del aclaramiento corregido por el porcentaje de unión a proteínas, mejoró levemente respecto a la predicción del aclaramiento del fármaco no unido (Obach y cols., 1997), aún quedan pendientes de realización trabajos que permitan contrastar la capacidad predictiva de este parámetro.

Con respecto a los mecanismos de eliminación, pueden diferir en cuanto a su capacidad entre especies o respecto a la circulación enterohepática. Si un fármaco es eliminado primariamente mediante biotransformación hepática, el aclaramiento total estará relacionado con el aclaramiento intrínseco, dependiente a su vez de la capacidad individual e intrínseca de la especie para metabolizar dicha sustancia.

Si una parte considerable de un fármaco es "aclorada" vía biliar y existen importantes diferencias entre especies en la fracción reabsorbida a la circulación sistémica, los parámetros farmacocinéticos podrían no ser susceptibles de extrapolación entre especies. Para el caso del aclaramiento hepático existen grandes limitaciones a la aplicación del escalaje animal debido a las sustanciales diferencias inherentes entre las especies implicadas (Boxenbaum, 1982; Lin, 1995), relacionadas con los mecanismos de excreción biliar (Mahmood & Sahajwalla, 2002). Las predicciones pueden ser ligeramente corregidas normalizando el flujo biliar basado en el peso corporal (Mahmood & Sahajwalla, 2002).

Numerosos estudios han demostrado la gran heterogeneidad tanto en Fase I como en Fase II de los procesos de metabolización de un principio activo (Paine, 1995). Con frecuencia, ciertas propiedades de índole bioquímica presentan dificultades al ajuste. Claro ejemplo de ello es el polimorfismo genético de la superfamilia del citocromo P450, pues a pesar de la elevada semejanza estructural entre los miembros de aquélla, pequeñas modificaciones en la secuencia aminoacídica entre las diferentes especies darían lugar a profundos cambios en la especificidad de sustrato y conducirían a variaciones farmacocinéticas extremas. De hecho, la más amplia e importante fuente de variabilidad entre especies proviene de las diferencias en las isoenzimas del citocromo P450 (Riviere y cols., 1997). Por ejemplo, el gen P450 IIIA expresa isoenzimas en la rata y el perro (Ciaccio & Halpert, 1989) pero sólo se manifiestan diferencias relacionadas con el sexo en la rata (González & cols., 1986; Eberhart & cols., 1991; Murray, 1991). Como consecuencia, quedaría impedida una adecuada estimación alométrica de los parámetros en la especie que mostrara el polimorfismo, o en otras

especies cuyas estimaciones estuvieran basadas parcialmente en los resultados de los estudios farmacocinéticos efectuados en especies polimórficas. El caso extremo tiene lugar cuando existen rutas metabólicas características de una especie, independientes del tamaño, en cuyo caso el ajuste alométrico carece de sentido.

Caso de conocer de antemano si un fármaco es metabolizado por una isoenzima bajo control de un gen determinado, la alometría funcionaría para la extrapolación de esa sustancia, ya que el contenido del citocromo P450 *escala* alométricamente respecto al peso corporal. Sin embargo, la situación real dista de ser sencilla. Algunos principios activos pueden ser metabolizados por isoenzimas controladas simultáneamente por dos genes distintos, lo que puede originar un diferente perfil de los metabolitos de la fase I. Además, pueden verse implicados otros genes así como enzimas no pertenecientes a la familia P450. El conocimiento de una isoenzima particular no proporciona ninguna pista acerca del éxito o fracaso de la alometría en la predicción del aclaramiento. No existe tendencia alguna que indique la posible predicción precisa del aclaramiento para un cierto fármaco, sea comparativamente mayor o menor cuando ese fármaco es metabolizado por una isoenzima particular (Mahmood, 2001).

La semivida de un fármaco eliminado por reabsorción tubular puede verse influida por el pH urinario. La extensión de este efecto dependerá del grado de ionización y concentración del fármaco en la luz tubular. Si un fármaco es reabsorbido significativamente de los túbulos renales y su grado de ionización es muy distinto en la orina de las distintas especies, las predicciones alométricas del aclaramiento variarían independientemente de la masa corporal. Una potencial solución a este problema podría ser la obtención de modelos alométricos basados en especies carnívoras o herbívoras por separado. En definitiva, para fármacos secretados renalmente debe tenerse precaución a la hora de interpretar los valores resultantes de la aproximación alométrica respecto al aclaramiento total y renal (Mahmood, 1998b).

III.- MATERIAL Y MÉTODOS

III. MATERIAL Y MÉTODOS

III.1. MATERIAL

III.1.1. Material biológico

Se emplearon animales pertenecientes a siete especies diferentes: Caballo (*Equus caballus*), burro (*Equus asinus*), oveja (*Ovis familiaris*), perro (*Canis familiaris*), conejo (*Oryctolagus cuniculi*), rata (*Rattus rattus*) y ratón (*Mus musculus*) (Tabla III.I).

Especie	Nº ejemplares	Raza	Edad	Sexo		Peso
				M	H	
Caballo	4	Hispano-anglo-árabe	8-11 años	4	1	425-550 kg
Burro	5	Castellano-leonesa	2-9 años	-	5	200-360 kg
Oveja	5	Segureña	3-6 años	-	5	41-55 kg
Perro	4	Beagle	3-5 años	2	3	11,6-13 kg
Conejo	4	Blanco gigante	1 año	3	2	2,5-3,3 kg
Rata	54	Wistar	3-5 meses	27	27	229-250 g
Ratón	90	Albino	2-3 meses	45	45	24,4-32,4 g

Tabla III.I. Material biológico empleado en la fase de experimentación.

III.1.2. Fármacos y patrones utilizados

La especialidad de fenilbutazona (FBZ) que se empleó para la realización de las pruebas fue Butasyl 100 ml (Fort Dodge Veterinaria, S.A., Girona, ESP), cuya concentración es de 200 mg/ml. Como sustancias patrón se emplearon fenilbutazona (Sigma Chemical Co., Missouri, USA) e indometacina (Sigma Chemical Co., Missouri, USA).

Para la obtención de plasma, las muestras de sangre fueron tratadas con heparina sódica al 5% (Heparina Leo, Byk Leo, S.L., Madrid, ESP).

Para la desinfección de las zonas de aplicación del catéter o de inyección del fármaco fueron empleados alcohol etílico 96° (PQS, Sevilla, ESP) y povidona yodada al 10% (Betadine solución antiséptica, Asta Médica, Burdeos, FRA).

III.1.3. Reactivos

Acetonitrilo calidad HPLC (1).
Ácido cítrico anhidro calidad P.A. (3).
Ácido sulfúrico (3).
Agua Ultrapura (2).
Éter dietílico 99,9% (3).
Helio gas N50.B50 (4).
Hidróxido sódico 97% calidad P.A.(3).
Metanol calidad HPLC (1).
N-Hexano 95% calidad HPLC (3).
Nitrógeno gas N50 (4).
Sulfato amónico calidad P.A. (3).
(1) Scharlau Chemic, Barcelona, ESP.
(2) Mili Q, Millipore, Molsheim, FRA.
(3) Panreac Química S.A., Barcelona, ESP.
(4) Alphagaz, Air Liquide España, Madrid, ESP.

III.1.4. Material fungible

Jeringas estériles desechables de 1; 2,5; 5; 10 y 20 ml (Braunüle, B/Braun Melsungen, Melsungen, ALE; Becton Dickinson S.A., Madrid, ESP).
Agujas estériles desechables (25G 5/8" 0,5x16; 21G1 1/2" 0,8x40; 20G 1" 0,9x25; 20G1 1/2" 0,9x40)(Becton Dickinson).
Catéteres y obturadores intravenosos (22Gx1"; 20Gx 1 1/4"; 18Gx2"; 16Gx2";14Gx") (Terumo Europe, Leuven, BEL; B/Braun) .
Vacutainer Systems Precision Glide, 0,9x25 mm (20Gx1)(Becton Dickinson).
Vacutainer Systems 5 ml. Sterile LH, 13x75 mm. (Becton Dickinson).
Tubos Eppendorff 1,5 ml (Daslab ®, distr. Beortek S.A. Vizcaya, ESP).
Viales de plástico 5 ml
Tubos de ultracentrifugación (Centricon, MILLIPORE®)
Puntas de micropipeta (20, 200 y 1000 µl)(Daslab ®).
Pipetas Pasteur (Chase Instruments, Glen Falls, NY, USA).
Sutura. Seda trenzada negra 2/0 (Lorca Marín, ESP).

Guantes de látex (Gahnos S.L., Madrid, ESP).
Gradillas.
Algodón hidrófilo, gasas estériles.
Material de vidrio diverso (matraces, vasos de precipitado,...)(Simax, Praga, REP. CHECA)
Columna Spherex (5µm C₁₈ 150x4,6 mm) (Phenomenex, Cheshire, UK)
Precolumna ODS (5µm C₁₈ 150x4,6 mm) (Sigma-Aldrich, Wisconsin, USA).
Columnas Bond Elut®, (C₁₈ 1 ml/100 mg) (Varian Associates, CA, USA).
Precolumnas Haicart® Spherisorb (C₁₈ ODS2 5µm 15x32 mm) (Higgins Analytical, CA,USA)

III.1.5. Instrumentación

III.1.5.1. Extracción y cuantificación

Balanza analítica de precisión (modelo AE-160, Mettler, Zürich, SUI).
Centrífuga (Selecta Meditronic, distr. Beortek, Vizcaya, ESP: modelo Heraeus; IEC, MA, USA: modelo Centra CL3R; Nahita, dsitr. Boente S.L. A Coruña, ESP: modelo 2610)
pHmetro (modelo microph 2001, Crison Instr., Barcelona, ESP).
Micropipetas de 20, 100, 200 y 1000 (Gilson, Villiers-Le-Bel, FRA)
Agitador magnético (Selecta Meditronic, modelo Agimatic 243).
Agitador de tubos (modelo κ-Vibrax-vxr, IKA Labtechnik, Staufen, ALE).
Concentrador de muestras (Techne, Cambridge, UK: modelo DB-3A).
Congelador -20 °C (Ariston).
Equipo de cromatografía líquida de alta eficacia:
- Bomba (Kontron 320).
- Detector Ultravioleta (Waters 848, Waters, Millipore, MA, USA).
- Software, Data System 450, versión 3.90 (Kontron).
- Formador de gradientes (Kontron, 425).

III.1.5.2. Material informático

Ordenador Intel Pentium (75 GB).
Impresora Hewlett Packard Laserjet 1012.
Escáner Hewlett Packard Scanjet 3970.
Entorno Windows 2000 (Microsoft Windows, Excel y Powerpoint).
Programas de tratamiento de datos GraphPad Prism, Sigma
Programa de tratamiento farmacocinético PCNONLIN.

III.2. MÉTODOS

III.2.1. Preparación de los animales

Con los caballos, el experimento fue llevado a cabo en las instalaciones en que se encontraban habitualmente, en *boxes* individuales, por lo que no fue precisa la aclimatación, y todos ellos continuaron con su pauta habitual de manejo (alimentación, bebida, calendario de vacunaciones y desparasitaciones, etc.) durante el ensayo.

En el caso de las burras, todas se encontraban en una explotación en régimen semiextensivo. Por tanto, fueron desplazadas a la Facultad de Veterinaria 72 horas antes de la prueba para su adaptación. Fueron alojadas en *boxes* individuales, y seguida la pauta de alimentación de la finca.

Para las ovejas empleadas no fue preciso que las condiciones de mantenimiento fueron modificadas. Fue dentro de las instalaciones del Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias donde se siguió el protocolo.

Los perros utilizados son especímenes entrenados para este tipo de experiencias. Son mantenidos en las dependencias que a tal efecto se tienen destinadas. Tampoco fue preciso en este caso período de aclimatación alguno.

Los animales de estas cuatro especies se encontraban en perfectas condiciones higiosanitarias, y habían sido sometidos a las correspondientes pautas de vacunación y desparasitación.

En el período pre-experimental se efectuó un examen clínico y analítico para comprobar el buen estado de salud de los animales seleccionados.

El examen clínico consistió en una exploración visual rutinaria con objeto de verificar si existía alguna alteración evidente mediante la observación del estado de piel, pelo y mucosas o modificaciones del comportamiento (intranquilidad, apatía, etc.). Además, fueron valorados los parámetros de las pruebas clínicas generales (frecuencias cardíaca y respiratoria, temperatura rectal, variaciones en la defecación y/o micción, etc.).

En cuanto al examen analítico se siguió, de igual modo, la pauta rutinaria. Fueron llevadas a cabo valoraciones hematológicas habituales de la serie roja (hematocrito, hemoglobina, hematíes,...) y blanca (fórmula leucocitaria, LUC, IL,...). También fueron llevados a cabo los exámenes bioquímicos más frecuentes (BUN, creatinina, AST, ALT, fosfatasa alcalina, ...).

Las tres últimas especies fueron animales de laboratorio suministrados por el Animalario de la U.C.M., el cual garantiza la condición higiénica y sanitaria de los mismos. En todos los casos permanecieron durante un período previo de adaptación anterior a la experiencia de 48 horas en las dependencias de la Cátedra de Farmacología donde se realizaban las pruebas.

En aquellas especies en las que se utilizaba catéter para las extracciones de sangre, se procedía a la depilación de una pequeña zona sobre la vena yugular izquierda. La zona era previamente desinfectada a fondo momentos antes de proceder a la manipulación. Acto seguido se procedía a la colocación y fijación de dichos catéteres intravenosos. Después se cerraban con sus correspondientes obturadores. Al finalizar el ensayo eran retirados.

III.2.2. Administración de los fármacos y toma de muestras

La administración se llevó a cabo siempre por vía intravenosa, con excepción del ratón, que fue intraperitoneal. Se aplicó una dosis única de 7,5 mg/kg p.v. de fenilbutazona a los caballos, en tanto que en el resto de especies la dosis fue algo inferior (5 mg/kg). Se llevó a cabo a partir del principio activo comercial (Butasyl® 100 mg inyectable).

La aplicación se realizó asépticamente en caballos, burros y ovejas a través de la vena yugular opuesta a la de colocación del catéter, administrándose en forma de *bolus*.

En el caso de los perros la vía escogida fue la vena cefálica, en la extremidad anterior, mientras que la administración al conejo se llevó a cabo en la vena auricular medial, donde se fijó el catéter. El fármaco, en la rata, fue directamente inoculado con jeringa en la vena caudal. Para el ratón, la fenilbutazona se inoculó por vía intraperitoneal.

La obtención de muestras sanguíneas se llevó a cabo a partir del catéter fijo mediante jeringas estériles heparinizadas. El catéter se fijó en todos los casos con sutura de seda. El volumen extraído estaba en función de la especie animal. Aproximadamente fueron 5 ml en las cuatro primeras especies. Unos 2 ml para el caso de conejo. Las ratas se distribuyeron en tríos de pesos similares y la sangre extraída directamente de corazón. Los ratones fueron agrupados en 18 lotes de peso homogéneo y posteriormente decapitados para la obtención del mínimo volumen de sangre preciso. En ambos casos se procuraba alcanzar 1 ml que permitiera obtener una muestra de 500 µl de plasma.

Los tiempos de extracción de sangre fueron 0; 5; 10; 15; 20; 30 y 45 minutos y 1; 1,5; 2; 3; 4; 5; 6; 8; 10 y 24 horas. Además, en el caso de los caballos se incluyó el tiempo de 2,5 minutos, y en ratas, el de 7 horas.

III.2.3. Preparación de las muestras

Tras la obtención de las muestras, éstas eran centrifugadas a 1800 g durante 20 minutos. Se separaba el plasma mediante pipetas Pasteur y tras un período de refrigeración, inmediatamente, se congelaban las muestras a -20°C. Quedaban almacenadas en los tubos Eppendorff, siendo procesadas antes de un mes tras su obtención.

Para la extracción, siguiendo el método propuesto (Caturla y Cusido, 1992), tomamos 500 µl de plasma que eran agitados en el vortex durante 2 minutos. Posteriormente se añadían 700 µl de tampón citrato (0,1 M, pH=2,00). Se vuelve a agitar la mezcla durante otros 2 minutos. A continuación los tubos eran centrifugados a 4500 r.p.m. durante 20 minutos. Del sobrenadante se recogía la cantidad de 1 ml, que era pasada por el cartucho de extracción sólido-líquido, el cual era previamente acondicionado con 5 ml de metanol y 5 ml de agua. A continuación, eran lavados los cartuchos con 5 ml de agua y se procedía a la elución a través de la columna con 5 ml de disolvente orgánico (N-hexano-eter dietílico, 1:1 v/v).

El extracto orgánico era llevado a sequedad a 40°C en atmósfera de nitrógeno. Esto era logrado gracias al empleo de un desecador de muestras.

III.2.4. Detección del fármaco

El residuo obtenido de la extracción era reconstituido con 200 µl de metanol para ser analizado por cromatografía.

La separación, identificación y cuantificación de la fenilbutazona se realizó mediante modificación del método descrito por Caturla y Cusido (1992), basado en la cromatografía líquida de alta eficacia y detección mediante absorción UV.

Las condiciones analíticas fueron las siguientes:

- ◆ COLUMNA: Spherex C18, 5 µm, 150 x 4,6 mm.
- ◆ PRECOLUMNA: Spherisorb C18 ODS, 5µm, 15 x 3,2 mm.
- ◆ FASE MÓVIL: Acetonitrilo:Buffer, 53:47 (Buffer: 0,02 M NH₄SO₃, pH=3 con H₂SO₃)
- ◆ FLUJO: 1,5 ml/minuto.
- ◆ LONGITUD DE ONDA: 240 nm.
- ◆ TEMPERATURA: Ambiente.
- ◆ VOLUMEN DE MUESTRA INYECTADO: 20 µl.
- ◆ AUFS: 0,01.

III.2.5. Validación del método extractivo y de cuantificación

III.2.5.1. Linealidad y precisión. Recta de calibrado

Para el estudio de linealidad del método se utilizaron patrones en solución metanólica preparados a diario por duplicado, en un intervalo de concentraciones entre 0,1 y 20 µg/ml en plasma. Se estudió la relación entre los valores de área bajo picos cromatográficos y las diferentes concentraciones de fenilbutazona. Los datos obtenidos se sometieron a un ajuste de regresión lineal por mínimos cuadrados para poder definir matemáticamente la relación existente entre las diferentes concentraciones y la respuesta obtenida.

Por otra parte, la investigación de la precisión del método analítico nos permitió definir el grado de reproducibilidad del mismo en un grupo homogéneo de muestras bajo unas condiciones normales de trabajo. Fue determinado a partir del cálculo de los coeficientes de variación interdía e intradía para cada especie sobre las concentraciones de 1, 5 y 10 µg/ml, con

un mínimo de 5 determinaciones por concentración, durante tres días, empleando dos concentraciones cada día.

III.2.5.2. Recuperabilidad

La recuperabilidad del método extractivo se calculó a partir de muestras de plasma de cada una de las especies, a las que se añadía un pequeño volumen de solución concentrada de FBZ para conseguir concentraciones de 0,1; 0,25; 0,75; 1; 2,5 y 5 µg/ml.

Los porcentajes medios de recuperación y su error estándar fueron calculados por comparación de las concentraciones obtenidas tras la extracción con las concentraciones esperadas a partir de las rectas de calibrado.

III.2.5.3. Límites de detección y cuantificación

El límite de detección del método se utilizó para determinar el contenido a partir del cual resulta posible deducir la presencia de la sustancia analizada. Fue calculado mediante la fórmula:

$$LD = (K \cdot DT) / m$$

donde:

LD es la concentración mínima detectable; K, margen de seguridad (3); DT, desviación típica obtenida para un blanco; y m, pendiente de la curva de regresión.

Este parámetro representa la magnitud de la respuesta de fondo analítica y se calculó mediante el análisis de 35 determinaciones ($n > 20$) en blanco de los diferentes sustratos, y equivale numéricamente al triple de la desviación estándar de las medias de dicha respuesta. El límite de cuantificación representa el contenido más pequeño de sustancia analizada respecto a una medición numérica. Se calculó de igual forma que en el caso anterior y equivale numéricamente a 6 veces la desviación estándar de las medias de las determinaciones en blanco.

III.2.6. Detección del nivel de unión a proteínas

Para hallar el porcentaje de unión de la FBZ a proteínas en el plasma de las diferentes especies se empleó el sistema de ultrafiltración sobre tubos provistos de membranas anisotrópicas adaptados para su uso en centrífuga. A las muestras de plasma se añadía la FBZ a distintas concentraciones en una cantidad constante, para después ser incubadas a 37°C durante 30 min antes de ser introducidas en el sistema de ultrafiltración.

El mencionado sistema era centrifugado durante 60 min en una centrífuga también a 37°C a 2000 g. En la fracción filtrada, mediante cromatografía se determinaba la concentración en la fracción de plasma libre de proteínas. Mediante la diferencia entre la concentración total de fármaco y la concentración en la fracción libre, se calculaba el porcentaje de la FBZ unido a proteínas plasmáticas:

$$\% \text{FBZ}_{\text{u}} = (\text{FBZ}_{\text{t}} - \text{FBZ}_{\text{nu}}) \times 100 / \text{FBZ}_{\text{t}}$$

donde: FBZ_{u} es fenilbutazona unida a proteínas plasmáticas, FBZ_{t} , fenilbutazona total y FBZ_{nu} , fenilbutazona no unida.

III.2.7. Análisis de datos

III.2.7.1. Análisis farmacocinético

Los parámetros farmacocinéticos resultantes de la administración de FBZ fueron calculados mediante análisis no compartimental (SCI Software, 1992). Los datos plasmáticos de la concentración respecto al tiempo para cada uno de los individuos correspondientes a cada una de las siete especies fueron ajustados, para una administración intravenosa, a una curva de acuerdo con la ecuación

$$C = C_1 e^{-(\lambda_1 t)} + C_2 e^{-(\lambda_2 t)}$$

mediante un algoritmo no lineal de regresión por mínimos cuadrados. El área bajo la curva concentración plasmática-tiempo ($\text{AUC}_{(0-\infty)}$) fue estimado mediante el método trapezoidal extrapolando al infinito empleando $C_{\text{last}}/\lambda_2$. El tiempo medio de residencia (MRT) se calculó a través de la división $\text{AUMC}_{(0-\infty)}/\text{AUC}_{(0-\infty)}$. El aclaramiento plasmático total (Cl) se obtuvo aplicando la ecuación:

$$Cl = D / AUC_{0,\infty}$$

donde D es la dosis administrada. Finalmente, el volumen aparente de distribución en el estado estacionario (V_{ss}) se estimó empleando la fórmula:

$$V_{ss} = Cl \cdot MRT$$

III.2.7.2. Análisis alométrico

En un primer lugar se realizó el ajuste (escalaje) de los parámetros farmacocinéticos en función del peso de cada especie, mediante la fórmula alométrica básica ($P=aW^b$, donde P es el parámetro cinético, W el peso, a el coeficiente y b , el exponente alométrico). Para ello se transformaron logarímicamente, tanto variable independiente (peso) como la variable dependiente (parámetro farmacocinético, corregido por la dosis de FBZ expresada por el peso en los casos de V_d y Cl), se representaron gráficamente y se ajustaron matemáticamente a la ecuación de una recta ($Y = K_n + n_n X$). En el escalaje utilizamos las siguientes nomenclaturas para designar las pendientes y los valores de los puntos de corte con el eje de ordenadas:

$$\begin{aligned} \log (Cl \times D/kg) &= K_1 + n_1 \log W \\ \log (V_d \times D/kg) &= K_2 + n_2 \log W \\ \log (t_{1/2\beta}) &= K_3 + n_3 \log W \\ \log (MRT \times D/kg) &= K_4 + n_4 \log W \end{aligned}$$

En segundo lugar, y siguiendo la metodología propuesta por Dedrick y Boxenbaum, los datos de concentración de fármaco en función del tiempo se sometieron a una transformación alométrica, basada en los exponentes calculados en el escalaje de los parámetros cinéticos. La variable independiente, de tipo temporal, fue transformada en diversos parámetros (tiempo equivalente, apolisicrones, kallinocrones, dieneticones y sindesicrones) en función de los factores fisiológicos (peso corporal, peso cerebral, metabolismo basal, ...) o farmacocinéticos (distribución, aclaración, eliminación) que pueden influir en las diferencias cinéticas interespecies, de acuerdo con los siguientes argumentos matemáticos:

	Abscisas	Ordenadas
Tiempo cronológico	Tiempo (min)	CCp/(dosis/peso)
Tiempo equivalente	Tiempo/peso ⁿ³ (min/kg ⁿ³)	
Apolisincrones	Tiempo/peso ⁽ⁿ²⁻ⁿ¹⁾ (min/kg ⁽ⁿ²⁻ⁿ¹⁾)	
Kalinocrones	Tiempo/ peso ⁽¹⁻ⁿ¹⁾ (min/kg ⁽¹⁻ⁿ¹⁾)	
Dieneticrones	Tiempo/(MLP peso ⁽ⁿ²⁻ⁿ¹⁾)(min/años kg ⁽ⁿ²⁻ⁿ¹⁾)	CCp/(dosis/peso ⁿ²)
Sindesicrones	Tiempo/(peso ⁽ⁿ³⁻ⁿ²⁾ .peso cerebral ⁿ⁴)	

Tabla III.1.- Sinopsis de las expresiones matemáticas que definen las variables dependientes e independientes en las distintas transformaciones alométricas en sistemas de tiempo invariable.

III.2.7.3. Evaluación de los métodos de análisis

Los resultados obtenidos se han expresado siempre como media aritmética acompañada de un parámetro que refleja el desvío de los datos de este valor medio (error estándar medio, ESM; desviación estándar, DE o coeficiente de variación, CV) en función del tipo de parámetro y de su obtención.

La bondad del ajuste farmacocinético de los datos de concentración plasmática en función del tiempo se evaluó en función del valor de los criterios de SC (suma de cuadrados) y de Akaike (AIC).

Las relaciones lineales entre dos variables se realizó utilizando regresión lineal por mínimos cuadrados, cuyo ajuste fue valorado en función del coeficiente de correlación (r^2).

La precisión de los cálculos efectuados sobre los valores extrapolados se llevó a cabo mediante el empleo del porcentaje del error medio de los valores observados sobre los esperados, en función del valor de los esperados (SPP).

IV.- RESULTADOS

IV.- RESULTADOS

IV.1.- Validación del método cromatográfico

La tabla IV.1 muestra los datos de las rectas de calibración, correspondientes porcentajes de recuperación plasmática de la fenilbutazona en las diferentes especies, a través de cuya obtención se perseguía la validación del método cromatográfico. Los datos cromatográficos utilizados para calcular estas rectas de calibración de cada una de las especies se encuentran incluidos en el Anexo (Tablas A.1 - A.7).

DATOS DE RECTA DE CALIBRACIÓN Y RECUPERABILIDAD				
	Pendiente	Corte con eje Y	R ²	Recuperabilidad
Caballos	0,1260	0,0869	0,9582	83,14 %
Burros	0,1224	-0,0102	0,9925	88,80 %
Ovejas	0,5222	0,0201	0,8235	102,27 %
Perros	0,1179	0,1974	0,9196	94,70 %
Conejos	0,1383	0,0375	0,9869	95,91 %
Ratas	0,9616	-0,6253	0,9661	90,96 %
Ratones	0,1334	-0,0514	0,9823	103,77 %

Tabla IV.1.- Resultados del método de identificación, separación, extracción y cuantificación de fenilbutazona mediante cromatografía de alta resolución (CLAE) a partir de muestras plasmáticas de diferentes especies animales.

IV.2. Estudio Farmacocinético

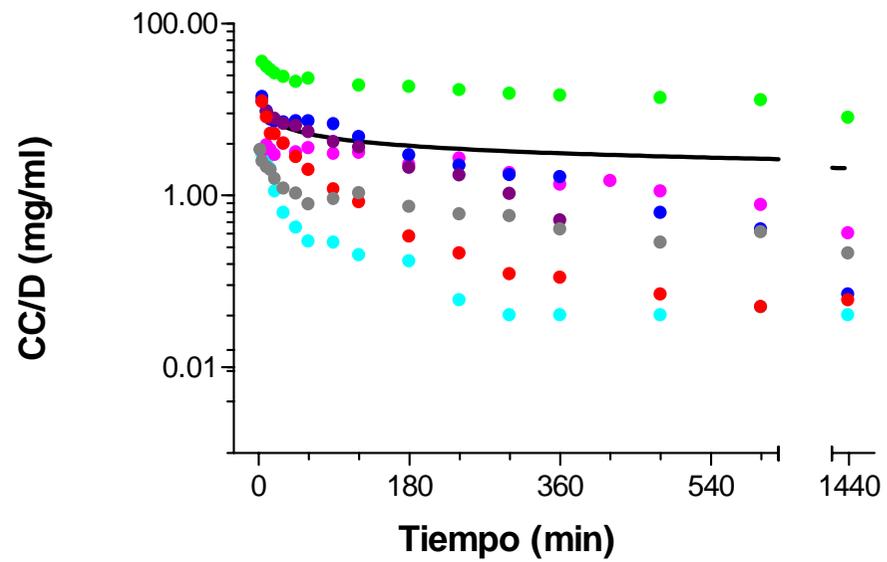
IV.2.1.- Concentraciones plasmáticas en las diferentes especies

Los datos medios de concentración plasmática de fenilbutazona en cada una de las siete especies empleadas en el presente estudio para cada tiempo de muestra tras la administración de FBZ por vía endovenosa aparecen en la tabla IV.2. Los valores individuales de estas medias están reflejados en las Tablas A.8-A.14, del Anexo de esta memoria.

La gráfica IV.1. representa la curva tiempo/concentración plasmática de la FBZ en las distintas especies. Dichas concentraciones fueron corregidas por la dosis con el fin de situar los datos en el mismo rango, dada la diferencia de dosis entre los caballos y el resto de las especies.

Tiempo (min)	CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS (mg/l)						
	CABALLOS	BURROS	OVEJAS	PERROS	CONEJOS	RATAS	RATONES
2,5	25,37 ± 3,31						
5	18,53 ± 4,45	60,82 ± 20,85	177,55 ± 14,43	61,98 ± 12,71	69,84 ± 14,50	16,17 ± 2,60	14,69
10	15,87 ± 4,41	40,21 ± 12,24	156,31 ± 12,40	45,99 ± 11,79	47,50 ± 7,72	18,98 ± 7,91	12,15
15	14,78 ± 3,13	25,92 ± 4,67	142,82 ± 15,21	39,38 ± 7,76	38,18 ± 25,25	16,92 ± 4,79	9,98
20	11,54 ± 4,34	25,54 ± 4,92	131,59 ± 7,78	38,89 ± 10,34	36,01 ± 20,04	14,71 ± 3,63	5,54
30	8,93 ± 4,91	19,96 ± 9,32	118,90 ± 20,01	33,82 ± 7,67	35,14 ± 17,00	19,83 ± 3,33	3,11
45	7,80 ± 3,47	13,97 ± 7,05	104,36 ± 9,87	31,92 ± 4,41	36,29 ± 16,79	15,80 ± 7,29	2,08
60	5,86 ± 2,59	9,81 ± 5,76	113,17 ± 11,96	27,10 ± 5,23	36,13 ± 3,68	17,60 ± 5,68	1,47
90	6,75 ± 1,88	5,83 ± 4,14		20,74 ± 5,53	33,67 ± 4,87	15,17 ± 6,59	1,38
120	7,86 ± 1,68	4,16 ± 3,25	94,89 ± 4,79	17,95 ± 4,06	23,83 ± 9,05	15,56 ± 0,73	1,01
180	5,44 ± 1,91	1,67 ± 1,71	90,98 ± 14,74	10,45 ± 2,06	14,59 ± 8,74	11,33 ± 5,52	0,84
240	4,53 ± 1,59	1,06 ± 0,93	83,62 ± 8,65	8,55 ± 2,27	10,98 ± 7,86	13,35 ± 5,68	0,28
300	4,27 ± 1,15	0,59 ± 0,51	75,74 ± 5,16	5,17 ± 2,42	8,58 ± 6,90	9,04 ± 2,65	0,19
360	3,01 ± 1,42	0,57 ± 0,38	72,31 ± 15,14	2,55 ± 1,85	8,16 ± 1,17	6,64 ± 1,85	0,21
420						7,31 ± 4,10	
480	2,11 ± 0,52	0,33 ± 0,18	67,39 ± 13,48		3,09 ± 1,69	5,54 ± 2,09	0,18
600	2,80 ± 1,36	0,25 ± 0,11	64,01 ± 8,62		2,02 ± 1,53	3,86 ± 1,52	0,26
1440	1,61 ± 0,28	0,30 ± 0,25	39,74 ± 19,21		0,36 ± 0,17	1,78 ± 0,69	0,20

Tabla IV.2.- Datos medios (±SE) de concentración plasmática (mg/l) de fenilbutazona tras administración de una dosis única del fármaco por vía endovenosa en las distintas especies animales.



- **caballos**
- **burros**
- **ovejas**
- **perros**
- **conejos**
- **ratas**
- **ratones**

Gráfica IV.1.- Representación semilogarítmica frente al tiempo de la relación concentración plasmática/dosis administrada de FBZ por unidad de peso en las distintas especies animales

. Ajuste de los datos a una ecuación $y = Ke^{-\lambda t}$.

IV.2.2.- Análisis Farmacocinético

Los valores medios de los parámetros farmacocinéticos obtenidos tras el ajuste no compartimental de los datos de concentración plasmática de fenilbutazona en función del tiempo para las distintas especies animales se han sintetizado en la Tabla IV.3.; los valores individualizados de estos mismos parámetros aparecen en el Anexo (Tabla A.15-A.21).

Parámetros	CABALLOS	BURROS	OVEJAS	PERROS	CONEJOS	RATAS	RATONES
α (min ⁻¹)x10 ⁻²	6,84 ± 2,53	6,38 ± 3,00	5,82 ± 2,02	26,58 ± 16,15	11,54 ± 6,97	1,53 ± 1,92	6,15
t _{1/2α} (min)	11,00 ± 3,24	12,91 ± 6,03	13,18 ± 4,89	3,49 ± 2,10	8,46 ± 6,20	183,99 ± 100,2	11,26
β (min ⁻¹)x10 ⁻³	1,21 ± 0,34	2,88 ± 0,88	0,75 ± 0,32	8,40 ± 1,20	3,52 ± 0,34	1,21 ± 0,38	1,30
t _{1/2β} (min)	618,3 ± 230,6	264,4 ± 100,8	1128,1 ± 660,7	83,8 ± 13,6	198,0 ± 19,3	617,4 ± 206,4	532,2
Vd _{ss} (ml/kg)	1143,7 ± 401,1	585,3 ± 443,4	47,0 ± 2,8	117,0 ± 18,6	125,4 ± 26,0	283,2 ± 74,1	3431,6
Cl (ml/h/kg)	1,35 ± 0,32	2,47 ± 0,98	0,03 ± 0,02	0,90 ± 0,18	0,60 ± 0,22	0,58 ± 0,08	6,33
AUC	4657 ± 1120	2269 ± 970	92609 ± 15528	5484 ± 1334	8849 ± 2702	7736 ± 1415	706
MRT (min)	856,2 ± 307,2	226,0 ± 142,5	1580,2 ± 976,5	131,2 ± 19,7	218,9 ± 48,8	490,5 ± 108,0	541,6

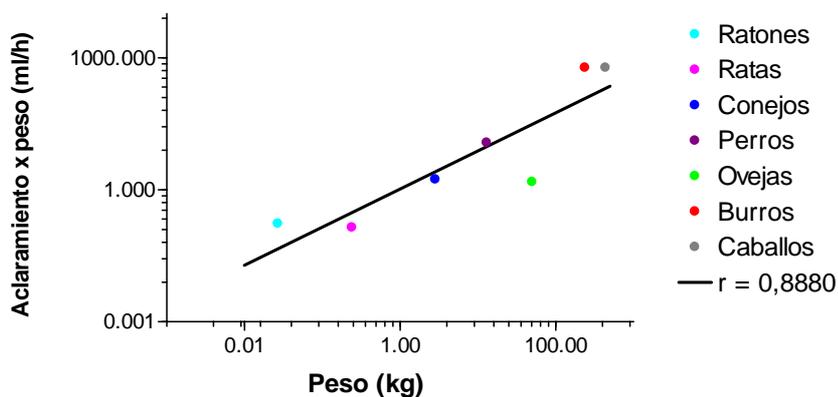
Tabla IV.3.- Datos medios (±DE) de los parámetros farmacocinéticos de fenilbutazona tras administración de una dosis única del fármaco por vía endovenosa en las distintas especies animales.

IV.3.- Estudio Alométrico

IV.3.1.- Escalaje alométrico de los parámetros cinéticos

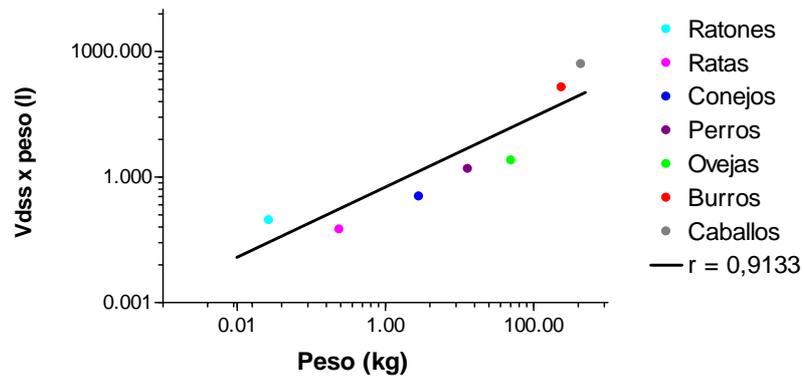
Las Gráficas IV.2 – IV.5 recogen la representación logarítmica de los parámetros cinéticos medios (Aclaración, Volumen de distribución, Semivida de eliminación y Tiempo Medio de Residencia) frente al peso medio de cada una de las especies animales y la recta resultante del ajuste lineal de estos datos.

Los valores de la pendiente y del punto de corte con el eje de ordenadas de las rectas de ajuste de todos los parámetros cinéticos se encuentran plasmados en la Tabla IV.4. junto con los coeficientes de correlación respectivos. En las Tablas A.22–A.24 del Anexo se muestran las diferencias entre los valores obtenidos experimentalmente (obtenidos) y los estimados mediante las ecuaciones de ajuste alométrico (esperados) para los distintos parámetros en las especies estudiadas y se comparan con los encontrados en la bibliografía consultada.



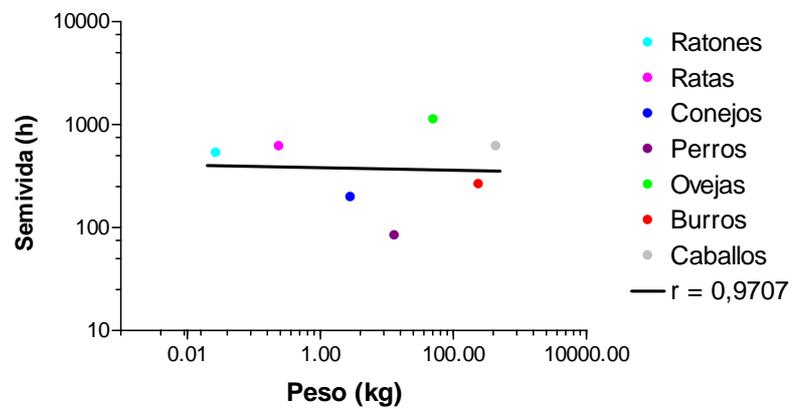
$$\log Cl = 0,0175 + 0,8647 \log P$$

Gráfica IV.2.- Representación logarítmica de los valores medios del aclaramiento corregido por el peso frente al peso medio de las especies animales. Ajuste de los datos a una ecuación $y=ax+b$.



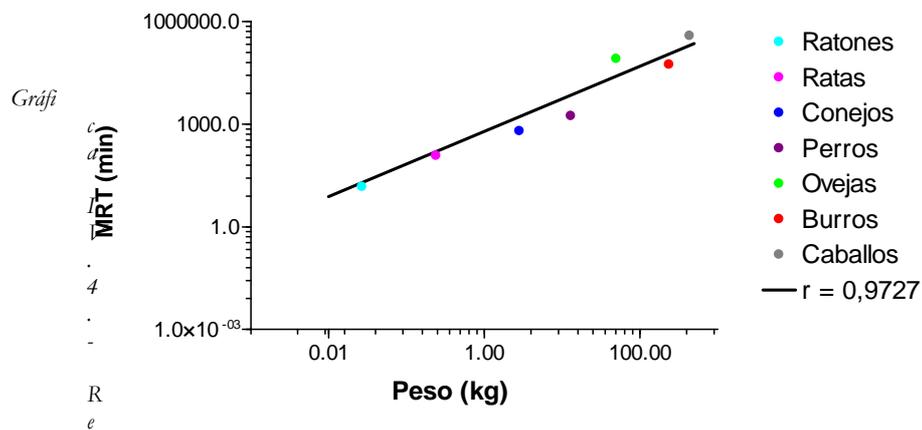
$$\log Vd = -0,3974 + 0,8945 \log P$$

Gráfica IV.2.- Representación logarítmica de los valores medios del volumen de distribución corregido por el peso frente al peso medio de las especies animales. Ajuste de los datos a una ecuación $y=ax+b$.



$$\log t_{1/2\beta} = 2,5830 - 0,0128 \log P$$

Gráfica IV.3.- Representación logarítmica de los valores medios de la semivida de eliminación frente al peso medio de las especies animales. Ajuste de los datos a una ecuación $y=ax+b$.



$$\log MRT = 2,6097 + 1,0169 \log P$$

presentación logarítmica de los valores medios del tiempo medio de residencia frente al peso medio de las especies animales. Ajuste de los datos a una ecuación $y=ax+b$.

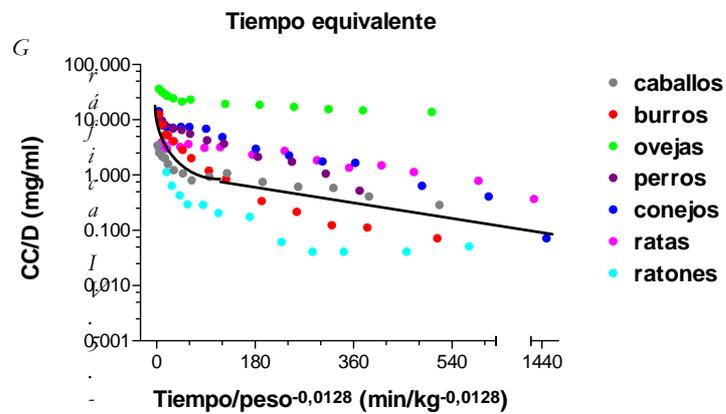
	Corte con eje Y		Pendiente		Ajuste
	Nombre	Valor	Nombre	Valor	R ²
Aclaramiento (Cl)	K ₁	0,0175	n ₁	0,8647	0,8880
Volumen de distribución (V _{ss})	K ₂	-0,3974	n ₂	0,8945	0,9133
Semivida de eliminación (t _{1/2β})	K ₃	2,5830	n ₃	-0,0128	0,9707
Tiempo medio de residencia (MRT)	K ₄	2,6097	n ₄	1,0169	0,9727

Tabla IV.4.- Escalaje de parámetros cinéticos en función del peso de las especies animales: valores de la pendiente, del punto de corte con el eje de ordenadas y del coeficiente de correlación.

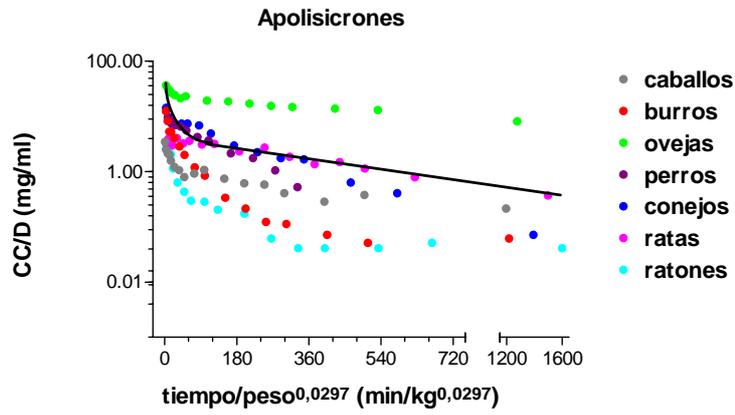
IV.3.2.- Transformaciones en *Tiempo Invariable*

En las gráficas semilogarítmicas IV.5–IV.9 están representadas las transformaciones de las concentraciones plasmáticas de FBZ en función de distintas variables independientes de tipo temporal: tiempo equivalente, apolisicrones, kalinocrones, dienetícrones y sindesicrones, calculados de acuerdo con los criterios de Dedrick y Boxenbaum. En las Tablas A.26-A.30 del Anexo aparecen los valores tras las transformaciones de los diferentes tiempos invariables para cada especie animal y en la Tabla A.25, los valores utilizados para su cálculo.

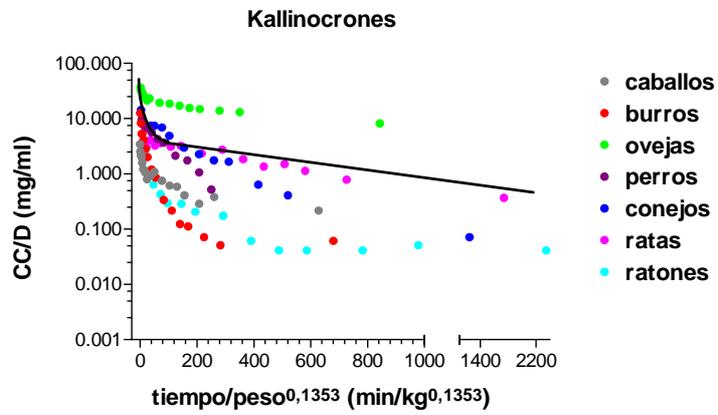
Los valores de los exponentes y constantes de las ecuaciones de ajuste de los valores obtenidos mediante transformación en tiempo variable aparecen en la Tabla IV.5.



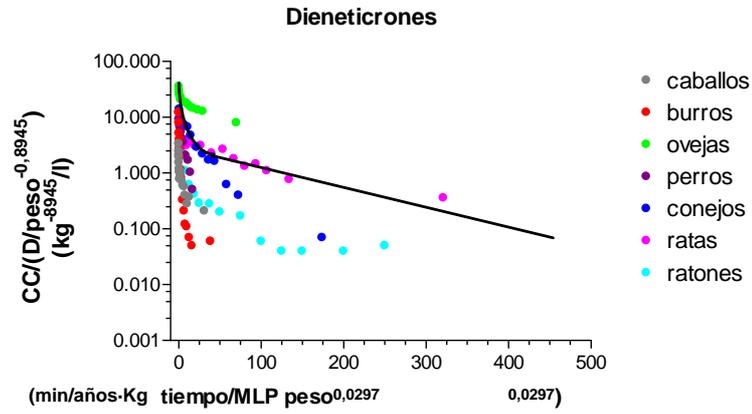
Representación semilogarítmica de las concentraciones plasmáticas corregidas por la dosis frente al tiempo equivalente de las distintas especies animales. Ajuste de los datos a una ecuación $y = a \cdot e^{-\lambda x}$.



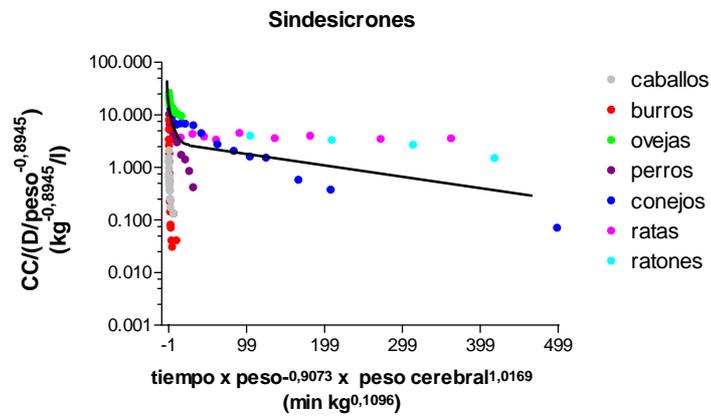
Gráfica IV.6.- Representación semilogarítmica de las concentraciones plasmáticas corregidas por la dosis frente a apolisicrones de las distintas especies animales. Ajuste de los datos a una ecuación $y=a \cdot e^{-kx}$.



Gráfica IV.7.- Representación semilogarítmica de las concentraciones plasmáticas corregidas por la dosis frente a los kalinocrones de las distintas especies animales. Ajuste de los datos a una ecuación $y=a \cdot e^{-kx}$.



Gráfica IV.8.- Representación semilogarítmica de las concentraciones plasmáticas corregidas por la dosis y el peso elevado al exponente del volumen de distribución frente a los dieneticrones de las distintas especies animales. Ajuste de los datos a una ecuación $y=a \cdot e^{\lambda x}$.



Gráfica IV.9.- Representación semilogarítmica de las concentraciones plasmáticas corregidas por la dosis y el peso elevado al exponente del volumen de distribución frente a los sindesicrones de las distintas especies animales. Ajuste de los datos a una ecuación $y=a \cdot e^{\lambda x}$.

	CONSTANTE	EXPONENTE (x 10 ⁻³)	COEFICIENTE DE CORRELACIÓN
TIEMPO CRONOLÓGICO	1,16	-2,6	0,2457
TIEMPO EQUIVALENTE	1,16	-2,5	0,2379
APOLISINCRONES	1,17	-2,8	0,2610
KALINICRONES	1,10	-2,7	0,2727
DIENETICRONES	0,72	-9,9	0,1897
SINDESICRONES	5,37	-48,8	0,3161

Tabla IV.5.- Valores de la constante, del exponente y del coeficiente de correlación de los ajustes alométricos de tiempo invariable a ecuaciones de tipo $y=a \cdot e^{\lambda x}$.

V.- DISCUSIÓN

V.- DISCUSIÓN

V.1.- DISEÑO DEL PROTOCOLO EXPERIMENTAL: REQUISITOS CINÉTICOS Y ALOMÉTRICOS

Con respecto a los principios básicos que un estudio farmacocinético en animales debe seguir, el presente trabajo se desarrolló de acuerdo con las pautas establecidas por la Agencia Europea de Evaluación del Medicamento, siguiendo tanto las Buenas Prácticas de Laboratorio, como los principios estadísticos para los ensayos clínicos en veterinaria. Igualmente fueron abordadas las cuestiones referentes al material biológico respetando al máximo el bienestar animal durante los procedimientos en lo relativo a la protección animal en experimentación y otros fines científicos (ver apartado de Legislación).

Por otro lado, existen una serie pasos a seguir y ciertos requisitos a cumplir a la hora de poder abordar un estudio alométrico (Mordenti, 1986; Sáez, 1996)(ver punto 3. de la discusión).

En numerosos casos basta llevar a cabo una recopilación bibliográfica para realizar un estudio alométrico. Mas a la hora de plantear un estudio *de novo*, el investigador que se plantea abordar un estudio alométrico tiene frente a sí un amplio abanico de posibilidades para realizarlo.

En primer lugar, a la hora de elegir el fármaco. Son numerosos los compuestos que han sido sometidos a *escalaje*, pertenecientes a la práctica totalidad de los grupos terapéuticos. Escogido aleatoriamente un grupo de fármacos, algunos investigadores los agrupan simplemente de acuerdo con su carácter, ácido o básico, tratando de valorar la influencia de esta cualidad en los resultados (Sawada y cols, 1984a y 1985; Lázniczek y cols., 1990). Por otro lado, ya se ha expuesto anteriormente que un estudio alométrico puede llevarse a cabo caso de que el fármaco a escalar cumpla una serie de condicionantes. Dado el carácter del estudio, y a pesar de los datos previos existentes en la literatura, el cumplimiento de aquéllos tenía que verse avalado por los datos resultantes de la parte experimental:

- Cinética de eliminación de primer orden (u orden conocido) en todas las especies abordadas en el estudio. Según se desprendía de la información previa de otros autores, y tal y como el resultado del análisis cinético de los datos corroboró, el comportamiento cinético de la FBZ cumplía esta primera premisa.

- Porcentaje de unión a proteínas plasmáticas lineal y similar entre especies en el intervalo de concentraciones empleadas. A las concentraciones terapéuticas la FBZ se une extensamente (>98%) a las proteínas plasmáticas y tisulares (Burns y cols., 1953; Tobin y cols., 1986), principalmente a la fracción de la albúmina, dada su naturaleza ácida (Brodie, 1966). De ahí que las concentraciones plasmáticas de FBZ sean apreciablemente superiores a las encontradas en tejidos orgánicos (Burns y cols., 1953). Pueden considerarse prácticamente coincidentes los valores de porcentaje de unión a proteínas plasmáticas obtenidos en el presente trabajo con los de las especies en las que ya habían sido calculados, con excepción de la rata –cuyo porcentaje se situaba en torno al 89%-. Baggot (1977) estima que valores de unión a proteínas superiores al 80% influyen tanto en la distribución como en la eliminación de un fármaco. Para las especies en las que se desconocía dicho dato (burro, conejo, ratón) éste se situó en nuestro estudio próximo al 98%. El comportamiento de la FBZ en Mamíferos resulta *constante* y, en consecuencia, permitía el abordaje del estudio alométrico.

- Procesos de eliminación basados principalmente en mecanismos físicos (excreción biliar, renal,...). El valor de los parámetros cinéticos obtenidos resultó próximo a los existentes en la literatura acerca del comportamiento de la FBZ y puso de manifiesto que la FBZ sufre mayoritariamente metabolismo hepático pese a la existencia de un pequeño porcentaje de eliminación renal. Sin embargo, ello no necesariamente descartaba la obtención de coeficientes próximos a 1. El motivo es que no en todos los casos un fármaco, por el simple hecho de que presente un tipo de eliminación determinado, presentará buenos o malos ajustes. De hecho, la FBZ, como veremos, presenta unos ajustes razonablemente buenos para el volumen de distribución y el aclaramiento.

- Volumen de datos suficiente para generar unas regresiones adecuadas. (ver punto 1 de la discusión).

En cuanto a la FBZ, se trata de una molécula ampliamente conocida y contrastada, estudiada en prácticamente todas las especies domésticas, y como ya hemos visto, en diversidad de condiciones. Su elección viene a significar cuál es el objetivo de la tesis, la comprobación práctica de las propiedades de la FBZ con el apoyo de la revisión bibliográfica para un posterior empleo de esos datos cinéticos en la alometría.

También queda a su criterio el grupo zoológico al que pertenecen las especies que tomarán parte en el estudio, así como el número de cada una de ellos y el de ejemplares a emplear. Son escasas las limitaciones en este apartado, a pesar de la trascendencia que puede llegar a tener. Acerca del grupo zoológico de pertenencia, y de acuerdo con la tasa metabólica, el reino animal (al menos, el susceptible de ser sometido a los estudios cinéticos), se subdivide en 5 grupos diferentes (Sedgwick & Borkowski, 1996), entre los que se distinguen dos grupos de mamíferos: marsupiales y no marsupiales. Con la excepción de la incipiente producción de canguro, ninguna especie doméstica es marsupial, por lo que a la dificultad implícita de encontrar material animal para llevar a cabo el estudio habría que añadir la falta de relevancia y utilidad del cálculo que de tal trabajo se derivara. En el mismo sentido, las aves incluyen dos grupos metabólicos (paseriformes y no paseriformes), cuyas tasas metabólicas, sustancialmente distintas a las de mamíferos, hubieran añadido un factor de distorsión evidente y, en última instancia, podrían haber imposibilitado el ajuste de los parámetros cinéticos y de éstos con el tiempo. El quinto grupo está constituido por animales ectotermos (reptiles) con los que la distorsión hubiera estado asegurada. En estudios en los que los datos procedían de vertebrados endotermos y ectodermos la influencia de la taxonomía se dejó notar en las amplias diferencias en los exponentes calculados para cada grupo (p.e. los trabajos de Kirkwood & Merriam, (1990) para la gentamicina). En otro estudio, los valores para la oxitetraciclina se vieron modificados al incluir entre los mamíferos una especie marsupial (Kirkwood & Widdowson, 1990).

El número mínimo de especies distintas a emplear es uno de los primeros puntos conflictivos. Es necesario utilizar un número de especies estadísticamente suficiente (entre 4 y 12) cuyos pesos formen una serie con factor en escala de exponente decimal (Mordenti, 1986; San Andrés, 1997). A dicho criterio, el cual condicionaba el desarrollo cinético, se suma la aceptación general de que cuanto mayor fuera el número de especies, mayor sería también la precisión del ajuste, si bien esto conlleva un incremento de tiempo y dinero adicionales (Bolton, 1997), aunque en ciertos casos ha quedado demostrado que el ajuste de los datos procedentes de un número de especies animales inferior a 3, permite predecir alométricamente los parámetros farmacocinéticos en el hombre (Boxenbaum, 1982; Sawada y cols., 1985; Chiou & Hsu, 1988). Finalmente se ha consensuado que se logra un ajuste fiable del aclaramiento manejando los datos de 3 especies, en tanto que para el volumen de distribución se logra igualmente una buena precisión con sólo 2 (Mahmood & Balian, 1996), siempre y cuando, evidentemente, exista cierta homología entre esas dos especies. Dicha semejanza debe ir acompañada de una cierta bondad en el ajuste y/o de igualdad de los datos.

Por tanto, asumidas las directrices anteriores, el número de especies domésticas utilizadas respondió a las exigencias anteriores y además trató de cubrir ampliamente el espectro de los distintos órdenes de mamíferos de especies domésticas. De una parte, herbívoros monocavitarios, de gran (caballo, burro) y pequeño tamaño (conejo) y policavitarios (oveja), carnívoros (perro) y roedores (rata, ratón).

El tamaño del grupo (número de ejemplares requeridos) ha de justificarse oportunamente (Guideline EMEA/CVMP/133/99-FINAL), por lo que como premisa de partida sería deseable emplear el tamaño mínimo de muestra para alcanzar los objetivos experimentales.

La consecución de un número estadísticamente significativo pasa por el cálculo del tamaño de muestra, la homogenización (simetría) de las mismas, el nivel de significación, la potencia –capacidad de mostrar significación-, la desviación estándar y una diferencia práctica con sentido (Bolton, 1997). A todo ello habría que añadir la última de las premisas que el inicio de un *escalaje* alométrico requiere, a saber, la existencia de un volumen de datos suficiente para generar unas regresiones adecuadas. Toda vez que la superación de este escollo requiere tan sólo de un adecuado diseño, sopesando todos los factores mencionados con anterioridad, este punto fue satisfactoriamente cumplido.

Para rata y ratón hubo que emplear un número mayor de individuos, que nos condujera a la obtención de un volumen de muestra suficiente debido a la dificultad intrínseca que ello posee y que permitiera su procesado. Tanto en un caso como en otro, además, la muestra se dispuso de forma estratificada, con elementos semejantes entre sí, pero con existencia de tramos muy diferentes, seleccionándose al azar de cada estrato (Bolton, 1997). Por ese motivo, en cada punto de muestra existía un lote de ratones (n=5) cuyo peso era homogéneo dentro del lote. La sangre de cada uno de los animales que constituían un lote era puesta en un *pool*. En consecuencia, cada uno de los puntos de muestreo, para el ratón, provenía de una única muestra, constituida por la parte alícuota de sangre de cada uno de los ratones del lote. En definitiva, el patrón seguido combinó el modelo de cinética de poblaciones (un punto por individuo)(Martín-Jiménez & Riviere, 1998; FDA, 1999) y el análisis de datos acumulados (*pooled*) para un mismo punto de muestreo (Jeremy y cols., 2001).

En el caso de las ratas, el diseño experimental precisaba igualmente un volumen de muestra mínimo, cuya dificultad de obtención en la rata

puede considerarse nula. Sin embargo, un diseño semejante al llevado a cabo en ratones precisaba de un elevadísimo número de ejemplares. Por esta causa se optó por un diseño más conservador, en el que los 54 especímenes fueron distribuidos en 3 lotes, cada uno de los cuales constituido por 18 animales. Cada ejemplar proporcionaba 2 muestras, suficientemente separadas en el tiempo, de modo que se cubrían 18 tiempos de muestreo, y cada tiempo dos muestras que por los tres lotes suponía un total de seis muestras independientes. De este modo se halló el comportamiento para 4 series de datos.

En lo que se refiere a la vía de administración, y de acuerdo con los criterios establecidos para llevar a cabo un estudio alométrico (Mordenti, 1986), aquélla ha de ser siempre la intravenosa. De esta manera se estudia sólo la disposición del fármaco e indirectamente nos aseguramos de que el volumen de distribución y el aclaramiento son calculados con precisión. La vía de administración y la forma farmacéutica problema afectan a la biodisponibilidad (tasa y extensión de la absorción) de los fármacos, y, en consecuencia, pueden influir sobre la intensidad y duración del efecto farmacológico (Baggot, 1992). La imposición de un criterio alométrico permitió soslayar estas potenciales fuentes de variabilidad, pues también la forma farmacéutica fue la misma en todos los casos. Sin embargo, para el ratón esta vía presenta enorme dificultad. Este inconveniente fue soslayado mediante el empleo de la vía intraperitoneal. A ello podemos añadir el hecho de que desde un punto de vista cinético, dadas las características de la especie, dicha ruta puede considerarse equivalente a la intravenosa.

De hecho, la mayoría de los fármacos se administran a una dosis y posología previamente determinadas para alcanzar el objetivo terapéutico marcado. Con respecto a la elección de la dosis, en este trabajo, al ser siempre la misma en todas las especies, excepción hecha del caballo, permite soslayar la posible falta de linealidad. Se trata éste de un aspecto controvertido, que sólo ha podido ser constatado en el caballo y el perro, en los que dosis crecientes no parecían significar un aumento de la concentración plasmática; para el resto aún ha de ser constatado este aspecto. La asunción de la validez de una misma dosis para todas las especies que participan supone la introducción de un factor de error relativo que se arrastrará en los sucesivos cálculos hasta la obtención del parámetro de interés. Dado que la dosis es igualada en función del peso (cantidad de fármaco/peso, 5 mg/kg), y que los estudios alométricos estudian precisamente las diferentes variables en función del tamaño (y del peso), cuando se realiza un estudio de esa índole, ya sea un *escalaje* a una

transformación a tiempo invariable, se maneja la dosis absoluta administrada a cada animal.

El objetivo principal de este estudio no era describir ni estudiar la farmacocinética de la FBZ. En este caso, el estudio cinético es una herramienta o método que proporciona los datos a partir de los cuales se inicia el verdadero trabajo: estudio alométrico.

En la mayoría de los estudios sobre el perfil farmacocinético de la FBZ los datos presentan un mejor ajuste a un modelo bicompartimental (Jaráiz, 1997); pese a la posibilidad de llevar a cabo dicho abordaje, que de hecho hubiera generado un mayor volumen de datos, optamos en nuestro caso para el tratamiento farmacocinético y estadístico por el empleo de un análisis no compartimental. Mediante el análisis no compartimental no se asume ningún criterio previo, aparte de la variabilidad individual, que pudiera interferir en la alometría y permite, además, obtener los parámetros definidos adecuadamente para abordar un estudio alométrico. En este caso el criterio cinético se encuentra supeditado al alométrico. En definitiva, la base conceptual de esta aproximación es que no se llevan a cabo asunciones acerca de la estructura subyacente del modelo, siendo el objetivo del análisis la estimación del aclaramiento y el volumen de distribución (Riviere, 1997).

En cualquier caso, se trataba de definir, predecir y describir la disposición de un determinado fármaco, por lo que se optó por el volumen de distribución, aclaramiento y semivida de eliminación. Cabe aclarar que finalmente se incluyó además el MRT como posible alternativa debido a la dificultad de *escalaje* que la semivida de eliminación presentaba en algunos estudios alométricos previos; ciertos autores recurrían a su empleo para efectuar cálculos indirectos de la semivida.

Las ecuaciones que se precisan pueden ser obtenidas a partir del *escalaje* de los parámetros o de las constantes farmacocinéticas. Si bien existe unanimidad con respecto a los parámetros cinéticos que se escalan *tradicionalmente*, algunos autores han propuesto considerar el MRT (Mahmood, 1998a) como ya se ha comentado.

Resulta un reto para distintos colectivos y en diferentes situaciones la realización de estimaciones fisiológicas apropiadas para una variedad de especies para las cuales los datos son inexistentes o incompletos (Lindstedt & Schaeffer, 2002). Las relaciones alométricas interespecies permiten salvar ese obstáculo dentro del campo de la Farmacología y para un determinado fármaco posibilitan predecir la disposición de esa misma sustancia en otra

especie distinta. Bien a partir de las ecuaciones de los diferentes parámetros, o bien de las constantes farmacocinéticas que proporcionan esas relaciones se calcula el valor correspondiente a la especie de interés (Weiss y cols., 1977). De este modo puede elaborarse la ecuación que describe la disposición del fármaco en la especie problema. Igualmente, los datos sobre la disposición de un fármaco también pueden ser escalados entre especies cuando el tiempo cronológico es sustituido por una medida apropiada de tiempo farmacocinético (Martín-Jiménez & Riviere, 2002).

Existen unos *principios de diseño* dependientes del tamaño corporal. Se generan así una serie de patrones que dictan numerosos aspectos del citado diseño y de la función entre especies para todos los mamíferos. Dichos aspectos son susceptibles de ser cuantificados. De ese modo se obtienen los parámetros que definen la ecuación alométrica, el coeficiente y el exponente alométricos.

Los coeficientes de las ecuaciones alométricas que escalan los parámetros cinéticos de los distintos fármacos para un determinado parámetro son muy variables. Por otro lado, el exponente alométrico se aproxima a determinados valores, siempre que esté en relación con un proceso fisiológico común a todas las especies (Ings, 1990). Así, el peso de los órganos individuales escala como fracción constante de la masa corporal (exponente $b=1$); los ritmos biológicos con un exponente de 0,25, y las tasas dependientes del volumen con un valor aproximado de b de 0,75 (Lindstedt & Schaeffer, 2002). Conviene señalar, no obstante, que para cualquier valor que se quiera estimar ha de tenerse en cuenta que una buena correlación entre peso corporal y un parámetro farmacocinético no es garantía de una buena predicción. (Duthu, 1985; Castells, 2001).

Una vez obtenidas las correlaciones iniciales, existen diversas herramientas, factores de corrección a introducir en las ecuaciones (transformación logarítmica, peso cerebral, MLP, regla de los exponentes, composición enzimática, peso hepático, porcentaje de unión a las diferentes proteínas plasmáticas, etc.), que permiten afinar el ajuste. Si finalmente se opta por aplicar además de una escala de tiempo farmacocinética, deberemos elegir cuál, de entre los distintos tipos. Se trata, en suma, de definir una ecuación de la disposición del fármaco válida para todas las especies tomando los perfiles tiempo-concentración en aquellas disponibles, para después aplicar los ajustes en tiempo farmacocinético propuestos por Dedrick y Boxenbaum (Dedrick y cols., 1970; Boxenbaum & Ronefeld, 1983; Boxenbaum, 1983 y 1984). En definitiva, las únicas limitaciones en los

argumentos matemáticos de escalaje alométrico son las que se impone el investigador (Boxenbaum, 1984).

V.2.- ESTUDIO FARMACOCINÉTICO

La variabilidad de algunos resultados descritos en la extensa literatura sobre el perfil farmacocinético de la FBZ y sus metabolitos parece tener su origen en una combinación de factores. En primer lugar, una posible influencia cronológica (Sullivan & Snow, 1982; Maitho y cols., 1986) ante la incertidumbre acerca del momento del día de aplicación de la dosis. Por otra parte, de la temprana realización de estudios sobre el comportamiento cinético de la FBZ en la mayoría de las especies cabe esperar cierta heterogeneidad en los criterios y metodología empleados que pudiera influir en la dispersión de los datos (técnica de detección, protocolos, número de animales, dosis aplicadas, etc.). En el caso de perro, conejo, rata y ratón, la ausencia de ciertos datos podría obedecer a otras circunstancias (distinto enfoque, falta de interés terapéutico, etc.). Son excepción el burro y la oveja, pues los hallazgos cinéticos han sido recientemente publicados.

Ante el elevado número de especies que se emplearon en el desarrollo del estudio, se incrementaban las posibilidades de que existieran diferencias en cuanto al comportamiento de la sustancia, pues las diferencias entre especies en el comportamiento farmacocinético son bastante más frecuentes que en la actividad farmacodinámica de los fármacos (Baggot, 2001). Pese a ello, si bien existen grandes variaciones en el comportamiento cinético de la FBZ entre las diferentes especies (Brook & Day, 1991) pueden señalarse unas características comunes a todas ellas que los parámetros cinéticos reflejan. El valor calculado para los parámetros estudiados resulta razonablemente semejante al encontrado en los trabajos publicados (Tabla V.1.).

Todos los AINE, incluida la FBZ, tienen una distribución limitada ($V_d < 0.3$ l/kg) (Baggot, 2001), que se refleja en el bajo volumen de distribución, atribuible al elevado grado de ionización plasmática y a su elevado grado de unión a la albúmina plasmática (superior al 80%); p.e. en caballo, vaca y perro oscila entre 0,13-0,25 (Tobin y cols., 1986; Semrad y cols., 1993; Mills y cols., 1995; De Veau y cols., 1998) (l/kg). En cualquier caso, el mayor valor hallado correspondió al ratón y el menor a la oveja, por lo que el rango de valores se situó entre 3,43 y 0,047 l/kg, todos ellos acordes con los valores hallados en la literatura. En líneas generales, la duración de la acción inflamatoria de la FBZ es mayor de lo esperable de acuerdo con los

niveles plasmáticos observados. Ello es achacable a su acumulación en los tejidos inflamados, las elevadas concentraciones en exudado, la liposolubilidad de las pirazolonas o la unión de FBZ a proteínas titulares, entre otros factores.

Sufre la FBZ extensa metabolización hepática, principalmente por reacciones de oxidación y glucuronidación, con intervención de otras enzimas plasmáticas, de la que surgen metabolitos activos. La ruta metabólica de la FBZ se encuentra descrita en varias especies (p.e., rata, perro o caballo). Las distintas rutas metabólicas en las diversas especies provienen de los diferentes patrones y enzimas metabolizadoras.

La excreción renal suele depender del pH urinario; se excreta más rápidamente en la orina de tipo alcalino que en las ácidas y sólo una pequeña porción del compuesto original se elimina inalterada por la orina. Por otro lado, aproximadamente un 10% de FBZ y sus metabolitos se excretan por bilis, con o sin reabsorción posterior. El 37 y 40% de las dosis administradas i.v. y p.o. fueron detectadas en heces (Smith y cols., 1985). El aclaramiento se encuentra igualmente influido por el metabolismo y, por tanto, sujeto a grandes variaciones entre especies, si bien el rango de variabilidad es menor. En este sentido, se aleja un tanto en nuestro estudio la oveja, la cual, en su condición de rumiante, sufre tanto un metabolismo ruminal como hepático.

Resulta sorprendente que de la proximidad filogenética de las especies de équidos incluidas en el estudio no se derive un comportamiento similar de los distintos agentes terapéuticos para ambos casos (caballo y burro). Las diferencias encontradas en el comportamiento farmacocinético de la FBZ para ambas especies sugieren que las dosis para burros deberían ser más elevadas, y más cortos los intervalos de administración para mantener unos niveles terapéuticos adecuados de fármaco en plasma (Cheng y cols., 1996; Mealey y cols., 1997; Matthews y cols., 2001).

Respecto a las especies empleadas de peso intermedio, el comportamiento de la FBZ en oveja siguió un patrón esperable en ruminantes, acorde con los resultados hallados en la bibliografía, mientras que para los casos del perro y del conejo hay que reseñar cierta desviación en los datos, los cuales eran, por otra parte, escasos.

		ESPECIES						
		CABALLO	BURRO	OVEJA	PERRO	CONEJO	RATA	RATÓN
<i>t_{1/2}</i>	Tesis (h)	10,3 ± 3,8	4,4±1,6	18,8±11,0	1,3±0,2	3,3±0,3	10,2±3,4	8,8
	Bibliografía. Mirar código, tabla X	3,5-7,1	0,63±0,13	17,92±1,74	2,8-6,7	1,8-3,0	2,78-3,99	1,5-3,0 **
		<i>Dosis</i> 4-10 mg/kg	<i>Dosis</i> 4,4 mg/kg	<i>Dosis</i> 4,4 mg/kg	<i>Dosis</i> 15-50 mg/kg	<i>Dosis</i> 8-100 mg/kg	<i>Dosis</i> 20-25 mg/kg	<i>Dosis</i> 100-200 mg/kg
		A1	B1	C1	D1	E1	F1	G1
<i>MRTI</i>	Tesis (h)	14,2±5,1	3,7±2,3	26,3±16,2	2,1±0,3	3,6±0,8	8,1±1,8	9,0
	Bibliografía. Mirar código, tabla X	5,5-6,35	0,69-1,4	21,22±1,73	-	-	-	-
		<i>Dosis</i> 2,2-4 mg/kg	<i>Dosis</i> 4,4 mg/kg	<i>Dosis</i> 4,4 mg/kg	-	-	-	-
		A2	B2	C2	D2	E2	F2	G2
<i>Cl</i>	Tesis (ml/kg/h)	1,35±0,32	2,47±0,98	0,03±0,02	0,90±0,18	0,60±0,22	0,58±0,08	6,15
	Bibliografía. Mirar código, tabla X	10,7-29,4	170,3-360,0	4,56±0,53	1104	-	44,6-52,1	-
		<i>Dosis</i> 2,2-4,4 mg/kg	<i>Dosis</i> 4,4 mg/kg	<i>Dosis</i> 4,4 mg/kg	<i>Dosis</i> 30 mg/kg	-	<i>Dosis</i> 20-25 mg/kg	-
		A3	B3	C3	D3	E3	F3	G3
<i>V_{ss}</i>	Tesis (l/kg)	1,143±0,401	0,585±0,443	0,047±0,002	0,117±0,018	0,125±0,026	0,283±0,074	3,431
	Bibliografía. Mirar código, tabla X	0,14-0,25	0,147-0,545	0,098±0,004	0,00017	0,183*	0,209	-
		<i>Dosis</i> 2,2-4,4 mg/kg	<i>Dosis</i> 4,4 mg/kg	<i>Dosis</i> 4,4 mg/kg	<i>Dosis</i> 30 mg/kg	<i>Dosis</i> 8 mg/kg	<i>Dosis</i> 25 mg/kg	-
		A4	B4	C4	D4	E4	F4	G4

Las dosis administradas en el trabajo de tesis doctoral fueron, en todos los casos, de 5 mg/kg, excepto el caballo, 7,5 mg/kg

* Volumen aparente de distribución

** Administración intraperitoneal

			ESPECIES						
			A - CABALLO	B - BURRO	C - OVEJA	D - PERRO	E - CONEJO	F - RATA	G - RATÓN
PARÁMETROS	$t\frac{1}{2}\beta$	1	Lees y cols., 1985 y 1986; Maitho y cols., 1986; Criman y cols., 1991; Landuyt y cols., 1993	Cheng y cols., 1996	Cheng y cols., 1998	Mills y cols. 1995b	Toutain y cols., 1980; Burns y cols., 1953	Perrey y cols. 1976; Jähnchen & Levy, 1972	Kitagawa y cols., 1968
	MRT	2	Serrad y cols., 1993; Toutain y cols., 1994	Cheng y cols., 1996; Mealey y cols., 1997	Cheng y cols., 1998				
	CI	3	Lees y cols., 1985; Maitho y cols., 1986; Lees y cols., 1987; Semrad y cols., 1991; Landuyt y cols., 1993	Cheng y cols., 1996; Mealey y cols., 1997; Matthews y cols. 2001	Cheng y cols., 1998	Mills y cols. 1995b		Perrey y cols. 1976; Jähnchen & Levy, 1972	
	V_s	4		Cheng y cols., 1996; Mealey y cols., 1997; Matthews y	Cheng y cols., 1998	Mills y cols. 1995b	Toutain y cols., 1980	Perrey y cols. 1976; Jähnchen & Levy, 1972	

				cols. 2001					
--	--	--	--	------------	--	--	--	--	--

En cuanto al comportamiento del conejo, dada la semejanza del aparato gastrointestinal y del régimen alimentario con el caballo, es similar a ésta especie, a menor escala. En efecto, la notable influencia del tamaño del ciego en numerosos procesos fisiológicos de ambas especies se deja notar, y de manera especial en lo que se refiere al valor del aclaramiento.

A pesar de la proximidad filogenética de las especies de roedores, en lo que se refiere al comportamiento de la FBZ tan sólo presentan dos coincidencias. Por un lado, el semejante valor de la semivida (que se prolonga en contra de lo que cabría esperar) que obedece a comportamientos radicalmente distintos, pues mientras el aclaramiento y el volumen de distribución en el ratón son mayores, en la rata existen unas menores penetración en los tejidos y capacidad de eliminación. Por otro lado, parece ser constante del comportamiento farmacocinético de la FBZ en roedores la rápida aparición de metabolitos: como respuesta a una elevada actividad enzimática (Kitagawa y cols., 1968) en el caso del ratón; altas concentraciones plasmáticas de OFBZ pueden, en la rata, influir en la disposición del fármaco original, además de haber sido constatada la presencia de distintos metabolitos.

V.3. ESTUDIO ALOMÉTRICO

V.3.1. Escalaje de los parámetros cinéticos. Interpolación y extrapolación

Volumen de distribución. Normalmente, este parámetro correlaciona bien con el peso corporal. Dado que el volumen de distribución es función directa de la unión a tejidos debería serlo también de la masa tisular. Sin embargo, el escalaje interespecífico del volumen de distribución puede no resultar tan fácil.

Si de la mencionada capacidad de unión a proteínas depende el volumen de distribución, y el porcentaje de unión varía entre las distintas especies, cabría esperar dificultades en el ajuste. Las diferencias en los volúmenes de distribución cuando se analiza un grupo de animales de distintas especies son achacables a diferencias, a su vez, en el grado de unión a proteínas plasmáticas (Sawada y cols., 1984). La variable capacidad de unión del fármaco entre las especies reflejaría las diferencias que entre éstas puedan existir en la composición y conformación de las proteínas (Baggot, 1977; Riond & Riviere, 1989; Riond & Riviere, 1990). No obstante, ello no resulta extraño dado que no existe relación alométrica entre capacidad de unión a proteínas y peso corporal (Lin, 1995). Resulta más apropiado corregir los valores de los parámetros farmacocinéticos obtenidos dividiendo por la fracción libre si la unión a proteínas plasmáticas es muy elevada o existe una gran variabilidad entre las especies participantes (Sawada, 1984 a y b, 1985; Mitsuhashi, 1990)

Para el caso de la FBZ, ésta presenta un elevado porcentaje de unión a proteínas en todas las especies, y bajos valores de volumen de distribución debido a que el porcentaje de FBZ que puede llegar a unirse a las proteínas tisulares resulta bajo.

A la hora de correlacionar el volumen de distribución el problema surge llegado el momento de optar por uno de los tres parámetros que lo definen: central, estado estacionario o en equilibrio de distribución. Cualquiera de los tres, indistintamente, se ha empleado en diferentes estudios alométricos. En el presente estudio, se emplearon los dos primeros (V_{ss} y V_z) y los exponentes alométricos fueron muy semejantes entre sí, respectivamente, de 0,89 y 0,87. El $V_{d_{ss}}$ representa la estimación preferida del volumen de distribución para estudios comparativos sobre disposición cinética entre especies pues se considera la estimación más robusta del volumen de distribución dado que es matemática y fisiológicamente

independiente del proceso de eliminación (Riviere, 1999). Justamente por ello es el más adecuado para llevar a cabo el estudio de determinadas alteraciones fisiológicas sobre la distribución.

El valor del coeficiente obtenido al escalar el V_{dss} (0,894), próximo a 1, revelaría una correlación entre volumen de distribución y peso; la gentamicina, fármaco ideal para la extrapolación alométrica dadas sus características cinéticas (eliminación casi exclusiva por filtración renal), presenta una relación directa con el peso que revela el exponente de 1,06 ($r^2=0,99$) (Martín-Jiménez & Riviere, 2001).

En el caso del volumen de distribución, el error medio entre valores obtenidos experimentalmente y esperados se encontraba dentro de unos márgenes razonables, con excepción de la oveja (Tabla A.23). Respecto a la extrapolación en otras especies, los valores esperados resultaron claramente inferiores a los observados, siendo los valores más próximos entre sí los correspondientes al cerdo (0,04-0,18, esperados-observados).

Aclaramiento. El aclaramiento tiene lugar principalmente por dos vías, hepática y renal, cada una de las cuales, a su vez, puede llevarse a cabo por varios mecanismos que en cualquier caso implican al flujo sanguíneo. El escalaje alométrico simple del aclaramiento funciona mejor cuando la eliminación es dependiente de parámetros fisiológicos que también escalan alométricamente (Boxenbaum & D'Souza, 1990).

El exponente que cabría encontrar para el aclaramiento se encuentra comprendido entre 0,75-1, con valores próximos para numerosos fármacos, como muchos otros parámetros que cuantifican la velocidad o ritmo con el que suceden distintos procesos biológicos, como el ritmo cardíaco, cuyo exponente cifró Boxenbaum (1982b) en 0,75.

El *escalaje* del aclaramiento puede, en función de la incidencia de una serie de mecanismos implicados, dar lugar a resultados satisfactorios (buena correlación) o resultar tremendamente problemático.

En general, el aclaramiento hepático es siempre más problemático que el renal, más aún en caso de que ambos mecanismos tengan lugar para el mismo fármaco. Hay que tener en cuenta que el *escalaje* tiene menos probabilidades de éxito si la eliminación es mediante biotransformación, dadas las diferentes rutas metabólicas de las distintas especies (Dedrick & Bischoff, 1980).

Excepcionalmente, si tiene lugar un metabolismo oxidativo (fase I), pueden esperarse buenas correlaciones –próximas a 1- del aclaramiento hepático; la excepción a esta regla sería el hombre, debido a su pobre capacidad de biotransformación (Boxenbaum, 1980), la cual parece relacionarse con el fenómeno de la neotenia (Yates & Kugler, 1986). La amplia variabilidad existente en ciertas ocasiones en las rutas metabólicas entre especies debería oponerse a la afirmación anterior, y de hecho, suele complicar el *escalaje*. Las posibilidades son amplísimas y numerosas las propuestas para su mejora, (Tsunekawa y cols., 1992; Bjorkman & Redke, 2000; Avilés y cols., 2001) como corrección a través de datos obtenidos *in vitro* (Lavé y cols, 1995, 1996a y b, 1997, 1999).

Para ciertos fármacos cuya eliminación mayoritaria tiene lugar a través del metabolismo puede resultar compleja la predicción partiendo de una relación alométrica clásica (Mahmood & Balian, 1996a; Mahmood, 1998a). De hecho los datos al respecto parecen contradictorios, pues mientras que es frecuente no hallar correlación aclaramiento-peso corporal, Gunther (1975) halló un exponente de 0,75 para la relación entre actividad de enzimas hepáticas y el peso y la actividad enzimática por unidad de masa hepática, por su parte, resultó ser constante entre especies (Boxenbaum, 1984). Por ello, en caso de existir rutas similares, el *escalaje* resultaría aceptable en función del peso y del flujo sanguíneo y del peso del hígado. El valor del exponente de la ecuación alométrica es (0,85) que caracteriza los valores del peso del hígado entre especies (Boxenbaum, 1980). Por tanto, en algunos casos cabrá esperar una buena relación alométrica entre aclaramiento hepático y peso (Boxenbaum, 1980) con valores de exponente de 0,82 (Weiss y cols., 1977) o 0,89 (Boxenbaum, 1980).

Sin embargo, la capacidad de filtración renal posee una relación alométrica con el peso corporal (Adolph, 1949): 0,73 (Weiss y cols., 1977) o 0,77 (Edwards, 1975). Es bueno el *escalaje* caso de producirse a través de filtración (p.e., los fármacos aminoglucósidos), complicado si los mecanismos implicados son la secreción, la reabsorción o incluso ambos, o si la unión a proteínas es elevada; son numerosos los factores a tener en cuenta a la hora de predecir los valores a partir de estas ecuaciones, tal y como evidenciaron algunos autores (Mordenti y cols., 1991; Mahmood, 1998b).

La inmensa mayoría de la FBZ en el organismo sufre intensa metabolización, y tan sólo una pequeña parte es eliminada vía renal. En una proporción variable, pero siempre pequeña, la FBZ es eliminada de forma inalterada por esa vía. De acuerdo con los datos obtenidos por nosotros, el exponente de la FBZ sería de 0,86, y se encontraría dentro del intervalo de los exponentes calculados para el flujo sanguíneo y el peso hepático. En este

sentido, Owens y cols. (1987) afirmaron que un exponente menor a 1 indicaba que la capacidad de un organismo de aclarar un fármaco decrece con el incremento del tamaño, es decir, con el aumento de peso.

Por último, al ser valorada la precisión de los cálculos realizados para la obtención del aclaramiento, reseñar que el error fue, en todos los casos, mínimo, siendo, para el caso de la oveja y el conejo prácticamente idénticos los valores esperados y los obtenidos (Tabla A.24). La comparación con los parámetros encontrados en la bibliografía dejó constancia, nuevamente, de la proximidad a los valores de los datos hallados por nosotros.

Semivida de eliminación. La mayoría de los procesos biológicos (frecuencia cardíaca o respiratoria, p.e.) transcurren a lo largo del tiempo y cuando se relacionan con el peso, los coeficientes con los que se relacionan habitualmente se sitúan cerca de 0,25 (Kleiber, 1975; Weiss y cols., 1977; Lindstedt & Calder, 1981); por ello, en estudios alométricos, el valor del exponente que con más frecuencia se repite cuando el parámetro en estudio se asocia al tiempo gira también en torno al valor de 0,25 (Kirkwood & Merriam, 1990; Kirkwood & Widdowson, 1990; Lashev y cols., 1992).

Si nos referimos a la fase terminal de eliminación, $t_{1/2\beta}$ y V_{β} justifican la disposición del fármaco para un régimen de administración concreto. Son ambos de ayuda en el establecimiento de pautas posológicas. La semivida, además de ser el parámetro más frecuentemente para describir y comparar los sistemas de eliminación de fármacos (Gaspari & Bonati, 1990) resulta determinante a la hora de establecer la posología de un fármaco ya que permite predecir tanto el grado de acumulación del fármaco como el tiempo preciso para alcanzar el estado de equilibrio estacionario (Gibaldi & Perrier, 1982).

Desde un punto de vista fisiológico, los parámetros independientes y con significado fisiológico son el volumen de distribución y el aclaramiento, y el parámetro dependiente y de naturaleza híbrida, la semivida. Por tanto, un cambio en la semivida refleja en realidad un cambio en la capacidad de aclaramiento (al que es inversamente proporcional) y/o en la distribución del fármaco (con el que la relación es proporcional). Por ello, según Baggot (1994), de los parámetros potencialmente aplicables en la predicción de los valores en otras especies, la semivida de eliminación es el que menos confianza ofrece. En la misma línea, algunos autores argumentan que al relacionarse indirectamente con funciones fisiológicas, la predicción de este parámetro mediante *escalaje* interespecífico resulta complicada (Lin, 1995;

Mahmood, 1998a). En cambio, otros autores esgrimen que precisamente se trata del valor más fiable, pues su valor permanece constante, al reflejar una relación entre aclaramiento y volumen de distribución, cuyas variabilidades interespecíficas pueden llegar a ser notables (Riviere y cols., 1997).

Bachmann (1989), Mahmood & Balian (1996a) y Obach y cols. (1997) emplearon la ecuación ($t_{1/2\beta}=0,693V_c/Cl$) para predecir las semividas de numerosos fármacos. La razonable precisión con que obtenían el valor del parámetro se veía a su vez supeditada a la precisión a la hora de obtener los valores del aclaramiento y del volumen de distribución (Mahmood, 1999). Empleando la ecuación anterior, el valor obtenido para el exponente alométrico de la semivida de la FBZ es de 0,70, diferente al hallado por nosotros, y alejado del valor teórico esperable.

Como quiera que la semivida es función inversa del aclaramiento y directamente del volumen de distribución, su valor teórico de escalaje se situaría en torno a 0,25 (exponente del volumen de distribución menos el del aclaramiento, es decir, $1-0,75$).

Los exponentes de la semivida de 25 fármacos evaluados oscilaron entre -0,066 y 0,547, con un valor medio de 0,213 (Mahmood & Balian, 1996c). Sin embargo, en nuestro caso el exponente se situó, muy próximo a 0, alcanzando un valor de -0,012. Dicho resultado difiere del obtenido a partir de un estudio analítico a partir de registros del banco de datos de la FDA (Riviere y cols., 1997), en el que el coeficiente para la FBZ era de 0,24. Según el razonamiento seguido, y a tenor de los valores encontrados para el volumen de distribución y el aclaramiento, en este mismo trabajo, la diferencia entre el exponente del aclaramiento y el del volumen de distribución arroja un resultado de 0,029, cercano a nuestro dato del exponente. Ello vendría a significar, además, que al representar una relación entre dos parámetros y tratarse de una constante, y encontrándose próximo a 0 su valor, no existe relación alométrica alguna con respecto al peso para el caso de la FBZ.

Boxenbaum (1982a) recopiló datos procedentes de distintos fármacos empleados por diferentes autores y procedió al cálculo de los parámetros alométricos que describían la variación entre especies en la semivida de eliminación de los principios activos. Hasta en siete especies era empleada la FBZ. De acuerdo con los cálculos de Boxenbaum, el exponente alométrico arrojó un valor de 0,06, con un coeficiente de correlación de 0,335 ($p<0,5$); en nuestro caso, el valor de la pendiente fue de -0,01. Por su parte, Riviere y cols. (1997) hallaron una pendiente de 0,24.

MRT. Como ya hemos apuntado algunos autores han estimado que el MRT podría ser también uno de los parámetros cinéticos a considerar a la hora de abordar un estudio alométrico, y que precisamente sería el método alternativo de más utilidad para los principios activos excretados mediante metabolismo, como la FBZ (Mahmood, 1998).

El empleo de MRT surgió como aproximación indirecta a la obtención del valor de la semivida de eliminación, dada la dificultad que con frecuencia se encontraba en su predicción (Mahmood, 1999). Mediante esta aproximación, se predecía el valor de MRT. Una vez hallado ese valor, éste, era empleado para la predicción de la semivida en el hombre aplicando la fórmula ($t_{1/2} = MRT/1,44$) (Mahmood, 1998). Los resultados de aquel estudio apuntaban a una predicción con un razonable grado de precisión en el hombre a partir de los datos obtenidos en animales, tanto del MRT en primera instancia, como de la semivida de eliminación, en segunda (Mahmood, 1999). En el presente trabajo, los valores encontrados para MRT arrojaron un coeficiente de 1,01. Es decir, existe una correlación directa entre el MRT y el peso.

V.3.2. Estudio alométrico de tiempo invariable

En la búsqueda de soluciones que permitieran mejorar el ajuste alométrico y, en definitiva, la capacidad predictiva de esta técnica, distintos autores fueron introduciendo sucesivos factores de corrección que permitieran mejorar dicha capacidad. Éste sería, en última instancia, el sentido de las transformaciones de tiempo invariable.

Así, comparando los valores de las transformaciones basadas exclusivamente en el peso, con las más complejas (aquellas que tienen en cuenta el MLP y/o el peso cerebral, además del peso corporal) comprobamos que no existen grandes diferencias entre ellos. Es decir, que la capacidad predictiva no mejora de modo ostensible, al menos para los datos de el presente trabajo. Del mismo modo, al efectuar la comparación de nuestros resultados con los índices de ajuste comúnmente aceptados, observamos que los ajustes tampoco son tan elevados.

Lo anterior entra en contradicción con lo propugnado por diversos autores. Para el caso de la FBZ, debería mejorarse la predicción al incorporar el MLP, dado que, de acuerdo con Bonate y Howard (2000b), esto tiene lugar si el metabolismo del fármaco es elevado y bajo su aclaramiento.

V.4. LA OTRA REALIDAD DE LOS ESTUDIOS ALOMÉTRICOS

A grandes rasgos, podemos afirmar que la mayoría de los trabajos publicados sobre alometría pertenecen a dos patrones definidos (Bonate & Howard, 2000a):

- Estudio, en idénticas condiciones, del comportamiento cinético de un fármaco en una variedad de especies más o menos amplia.
- Recopilación de datos a partir de la bibliografía en la que las estimaciones de los parámetros cinéticos son comparadas, mostrada la linealidad en una representación logarítmica.

Paradójicamente, son escasas las citas halladas en la literatura científica en las que el *escalaje* entre especies no resulte ajustado (Bonate & Howard, 2000a; Mahmood, 2000a), hecho que ha sido también constatado por nosotros a través de sendas revisiones bibliográficas en bases de datos. Precisamente era Mahmood (2000a) quien animaba a los investigadores a sacar a la luz tanto las investigaciones exitosas como las no ajustadas, pues precisamente éstas últimas permitirían, a través de futuros trabajos, determinar la causa del desajuste y mejorar la capacidad predictiva de la alometría.

Resulta un hecho conocido que la alometría adolece de fiabilidad para ciertas situaciones y no siempre tiene éxito (Mahmood, 2000a; Bonate & Howard, 2000a). Y es un hecho constatado que, para ciertos fármacos, la alometría no resulta una técnica aplicable; los parámetros que genera presentan un grado de confianza artificial (Bonate & Howard, 2000b).

El *escalaje* alométrico no requiere un sólido soporte matemático, y ofrece un método relativamente simple para predecir la cinética de un compuesto en el hombre, de complicado manejo en ocasiones como son los anticancerígenos, a partir de datos preclínicos en animales (Paxton, 1995). En Veterinaria es altamente improbable que se pueda llevar a cabo el estudio cinético de un cierto fármaco más que en una pequeña fracción de cada clase animal del total de especies. De ahí la trascendencia de la estimación de la dosis en una especie de la que se carece de datos para un determinado compuesto (Sáez, 1996).

Un aspecto comprometido de la extrapolación es la valoración del riesgo de la comparación entre especies, el cual adquiere una importancia capital en el desarrollo de especialidades destinadas al hombre. La incidencia de diferencias mayores, cuali y cuantitativas en el metabolismo de los fármacos entre especies es, probablemente, la más simple y al mismo tiempo

la mayor complicación; el factor de distorsión de mayor influencia a la hora de emplear especies animales como *predictores* de la cinética de un fármaco en el hombre u otra especie animal (Paxton, 1995). En general, dicha valoración implica la asunción de dos premisas diferentes y estrechamente relacionadas entre sí (Brown y cols., 1988):

- Son conocidas las dimensiones correctas de la relación dosis-respuesta.
- Existe algún análisis ajustado de las relaciones de riesgo que puede estimar éste a partir de estudios en diferentes especies.

A la hora de calibrar cuantitativamente el riesgo que la extrapolación entre especies supone asumimos que ciertos principios poseen validez de unas a otras, y de modo implícito, que existe una relación razonablemente estable entre la potencia que un cierto fármaco posee entre todas aquéllas. A fin de cuentas, el *escalaje* de parámetros farmacocinéticos entre especies es un método de inter y extrapolación basado en las similitudes fisiológicas, bioquímicas y anatómicas en mamíferos (Mordenti, 1986a y b, Paxton, 1995).

No obstante, se trata de un campo aún por explorar, y en consecuencia, han sido propuestos distintos modos de análisis de los datos, cada uno de los cuales posee sus virtudes. Sin embargo, prácticamente ninguno puede tacharse de inadecuado. Las reglas de la extrapolación han sido ampliamente desarrolladas sobre bases teóricas y sostenidas tan sólo débilmente por análisis empíricos de observaciones en unas pocas especies (Brown y cols., 1988). Por otra parte, los factores de *escalaje* interespecies son números empleados para ajustar un factor de potencia determinado en animales de experimentación para tener en cuenta las diferencias esperadas en dicha potencia, valorada en pruebas, entre hombre y animales. Esos factores pueden haber sido modificados de acuerdo con el impacto de principios farmacocinéticos al aplicarse en la valoración de riesgos (p.e., el riesgo de empleo de antitumorales), por lo que habrán de ser reevaluados en el futuro, aplicando principios farmacocinéticos y farmacodinámicos (Andersen y cols., 1995). El análisis empírico de los datos de potencia carcinogénica en roedores y el hombre muestra que, en general, se expresa mejor en términos de dosis/kg peso (Monro & Mordenti, 1995).

Ya obtenidos los parámetros cinéticos de interés, la cuestión que se plantea a menudo es ¿qué precisión poseen los parámetros obtenidos mediante el *escalaje*? En otras palabras, una buena correlación no necesariamente implica precisión, o dicho de otro modo, la estimación de un parámetro puede estar desviada y continuar siendo posible desde un punto de vista teórico. En este sentido, las estimaciones alométricas tienden a *sobrepredicir* antes que *infrapredicir*, y, a grandes rasgos, la precisión resulta

mayor para el aclaramiento que para volumen de distribución y semivida, por este orden (Bonate & Howard (2000a).

Uno de los puntos más conflictivos es la introducción de modificaciones para obtener mejores estimaciones de los parámetros farmacocinéticos caso de que la ecuación alométrica no presente un ajuste adecuado. El ejemplo clásico sería la esperanza máxima de vida, MLP, que permite, por ejemplo, mejorar la predicción para fármacos de elevada metabolización con un bajo aclaramiento. En realidad, la MLP no hace sino introducir la escala en función del desarrollo filogenético. Los factores de corrección carecen de utilidad en un modelo predictivo sin un adecuado conocimiento de cuándo son aplicados adecuadamente (Bonate & Howard, 2000b).

Otro aspecto que Campbell (1994) puso de manifiesto es cómo el *escalaje alométrico*, cuando es aplicado un factor de corrección como el MLP para llevar a cabo predicciones, puede generar estimaciones de los parámetros cinéticos cuyo error relativo medio no se desvíe de manera evidente del valor observado, si bien puede existir un amplísimo rango de valores, y se encuentra en función de la especie. Desviaciones del error inferiores a un porcentaje de $\pm 100\%$ se consideran aceptables. La desviación del valor de cada especie, positiva y negativa puede llegar a compensarse y dar como resultado un *falso* valor medio óptimo: márgenes de error medio escasos pueden provenir de grandes variaciones y desviaciones. Ciertos compuestos presentaron una predicción teórica muy ajustada; sin embargo, el resultado final puede no ser más que un valor *artificial*.

Paulatinamente, además, se va poniendo de manifiesto que a la hora de aplicar la alometría como herramienta surgen nuevos factores no evaluados hasta ahora y que, *a priori*, pueden afectar al *escalaje* farmacocinético entre especies, como pudieran ser diferencias en el patrón de disposición entre el hombre y los animales y la implicación de procesos de transporte activo en el mismo (Lavé y cols., 1999).

En conclusión, la mayoría de los cientos de sustancias con las que nos encontramos en contacto no es investigada empíricamente, debido a limitaciones financieras, prácticas y éticas (Hendricks & Heikens, 2001). La Industria Farmacéutica no se ajusta a este supuesto, pues necesariamente ha de probar y evaluar exhaustivamente cualquier principio activo antes de poder éste ser lanzado al mercado. Así, continuamente aparecen nuevas entidades químicas que son abandonadas en el proceso de desarrollo preclínico y clínico. De entre los numerosos supuestos en los que un fármaco potencial puede resultar inadecuado se encuentran la cinética o los derivados

del escalaje, a la hora de saltar del laboratorio al estudio piloto. En ese sentido, Caldwell y cols. (2001) proponen una reorganización de los departamentos preclínicos de modo que una aproximación paralela integre los distintos campos y se relacionaran así factores como las propiedades fisicoquímicas, absorción y metabolismo *in vitro*, cinética *in vivo* y *escalaje* farmacológico para optimizar la eficacia

Sin embargo, como hemos visto, la necesidad ineludible que preconizan ciertos autores de aplicar la alometría chocaría con corrientes escépticas que no dudan de su aplicabilidad, pero *a posteriori*, no como herramienta predictiva.

Es una utilísima herramienta la alometría, de evidentes aplicaciones y notables utilidades. Entre otras, y al hilo de lo mencionado con anterioridad, cabe citar la estimación de las dosis iniciales más apropiadas para ciertos fármacos en fase I en estudio. El desarrollo de fármacos requiere alcanzar rápidamente y de forma simultánea, la dosis máxima tolerada y el efecto farmacológico observable. De este modo se permiten un ahorro en tiempo y dinero, y se incrementa la posibilidad de que una dosis aplicada por vez primera posea un valor terapéutico real y nulo potencial tóxico (Paxton, 1995; Bonate & Howard, 2000a). En este sentido, el criterio que la FDA propugnaba fue criticado y tachado de empírico, simple y no científico, al tiempo que se exponían las perspectivas del empleo de la alometría (Boxenbaum & Dilea, 1995). Las razones que se esgrimen actualmente a favor de la alometría incluyen un mayor grado de seguridad en la elección de la dosis inicial, es cuantificable, supone una base diferente como segunda opción de seguridad, fácil de establecer y *parece funcionar* (Bonate & Howard, 2000a).

VI.- CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. Los valores de los parámetros que definen el comportamiento farmacocinético de la fenilbutazona en el presente estudio para caballo, burro, oveja, perro, conejo, rata y ratón, son semejantes a los descritos en la bibliografía.
2. Los parámetros cinéticos se ajustaron con precisión ($r > 0,90$) a la ecuación alométrica clásica ($y = a \cdot W^b$), ofreciendo los siguientes exponentes: 0,8945 para el Vd, 0,8647 para el aclaramiento y -0,0128 para la semivida de eliminación.
3. De las transformaciones en tiempo invariable realizadas en este estudio (tiempo equivalente, apolisicrones, kalinicrones, dienicrones y sindesicrones) fueron los sindesicrones, en cuyo cálculo se encuentran implicados tanto el peso corporal como el cerebral, los que ofrecieron el mejor ajuste (31%).
4. A pesar de que el escalaje alométrico de la fenilbutazona presenta unos índices de ajuste elevados, la alometría no puede ser utilizada como herramienta fiable en la predicción del comportamiento cinético de este fármaco.

VII.- RESUMEN Y SUMMARY

VII.- RESUMEN

El objetivo del presente trabajo ha sido la realización del estudio alométrico de la disposición plasmática de la FBZ en distintas especies de animales domésticos, a partir de datos obtenidos experimentalmente. Para ello se administraron dosis únicas (5 ó 7,5 mg/kg) de FBZ por vía endovenosa (*bolus*) a caballos, burros, ovejas, perros, conejos, ratas y ratones ($n=4-5$). Mediante análisis no compartimental de los datos de concentración plasmática del fármaco en función del tiempo, se calcularon los parámetros que describen el comportamiento farmacocinético de la FBZ en las distintas especies, no encontrándose diferencias con los datos aportados previamente por otros autores.

Los parámetros farmacocinéticos (Cl, Vdss, $t_{1/2\beta}$ y MRT) se sometieron a un escalaje mediante ajuste a la ecuación alométrica clásica ($y=a \cdot W^b$). Así se obtuvieron los valores de los exponentes que se encuentran dentro del intervalo establecido para los diferentes tipos de parámetros: Cl ($\text{exp}=0,864$; parámetro de velocidad de un proceso, $\text{exp}\approx 0,75$), Vdss ($\text{exp}=0,894$; parámetro dimensional, $\text{exp}\approx 1,0$) y $t_{1/2\beta}$ ($\text{exp}=-0,012$, parámetro de tiempo, $\text{exp}\approx 0,25$).

Utilizando los exponentes alométricos de los parámetros cinéticos, se realizaron diversas transformaciones matemáticas de la variables dependiente (concentración plasmática) e independiente (tiempo) sobre las gráficas de disposición del fármaco. Los datos de estas transformaciones en tiempo invariable (tiempo equivalente, apolisicrones, kalinocrones, dienetícrones y sindesicrones) fueron nuevamente ajustados a ecuaciones exponenciales del tipo $y=a \cdot e^{\alpha t}$. De todos ellos, los sindesicrones, en cuyo cálculo se encuentran implicados tanto el peso corporal como el cerebral, ofrecieron el mejor ajuste (31%).

VII.- SUMMARY

The aim of the present work was the performance of an allometric study. This study, focused on the plasma disposition of PBZ in different domestic animal species. Data were obtained experimentally after administration of a single dose (5 or 7,5 mg/kg bw) intravenously (*bolus*) to horses, donkeys, sheep, dogs, rats and mice ($n=4-5$). Drug plasma concentration data regarding time were analysed through a non-compartmental model. This procedure led to the acquisition of the kinetic parameters that defined the pharmacokinetic behaviour of PBZ in the different species. No significant clinical differences were founded between our data and those referred previously by other authors.

Kinetic parameters (Cl, Vdss, $t_{1/2\beta}$ and MRT) were fitted to an allometric scaling through the classical allometric equation ($y=a \cdot W^b$). By mean of this approach were obtained the exponents, which were near to those described for each parameter: Cl (0,864; parameter related to processes rate, $\approx 0,75$), Vdss (0,894; dimensional parameter, $\approx 1,0$) and $t_{1/2\beta}$ (-0,012, time parameter, $\approx 0,25$).

According to the allometric adjustment of the kinetic parameters, different mathematical transformations were performed. These transformations took into account the dependent (plasma concentration) and the independent variables, from the drug concentration plot. As result we obtained the time invariant transformations (equivalent time, apolisichrons, kallynochrons, dienetichrons and syndesichrons) that were again adjusted to exponential equations ($y=a e^{at}$). Syndesichrons, which transformation includes body and brain weight corrections, showed the best fitting (31%).

VIII.- BIBLIOGRAFÍA

VIII.- BIBLIOGRAFÍA

- Aarbakke, J.; Bakke, O.M.; Milde, E.J. & Davies, D.S. (1977) Disposition and oxidative metabolism of phenylbutazone in man. *European Journal of clinical Pharmacology* **11**:359-366.
- Adolph, E.F. (1949) Quantitative relations in the physiological constitutions of mammal. *Science*, **109**:579-585.
- Aguilera-Tejero, E.; Pascoe, J.R. & Woliner, M.J. (1993) Modulation of bronchial responsiveness in horses by phenylbutazone and furosemide. *Am. J. Vet. Res.*, **54**(10):1703-1708.
- Alberch, P.; Gould, S.J.; Oster, G.F. & Wake, D.B. (1979) Size and shape in ontogeny and phylogeny. *Paleobiology* **5**: 296-317.
- Alexander, D.M.; Mathew, E.A. & Wilson, B.J. (1985) Metabolism of phenylbutazone in rats. *Xenobiotica*, **15**(2):123-128.
- Alvares, A.P.; Kapelner, S.; Sassa, S. & Kappas, A. (1975) Drug metabolism in normal children and normal adults. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* **18**:179-183.
- Andersen, M.E.; Clewell, H. & Krishnan, K. (1995) Tissue dosimetry, pharmacokinetic modeling, and interspecies scaling factors. *Risk. Anal.*, **15**(4):533-537.
- Anton, A.A. (1961) A drug-induced change in the distribution and renal excretion of sulfonamides. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **134**:291-303.
- Arifah, A.K. & Lees, P. (2002) Pharmacodynamics and pharmacokinetics of phenylbutazone in calves. *J. vet. Pharm. Therap.*, **25**:299-309.
- Arita, H.A. (1998) De moscas y basiliscos. *Ciencias*, **49**:36-37.
- Atkins, C.E. & Johnson, R.K. (1975) Clinical toxicities of cats. *Veterinary Clinics of North America*, **5**(4):623-652.
- Avilés, P.; Pateman, A.; San Román, R.; Guillén, M.J.; Gómez de las Heras, F. & Gargallo Viola, D. (2001) Animal pharmacokinetics and interspecies scaling of sordarin derivatives following intravenous administration. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, **45**(10):2787-2792.
- Bachmann, K. (1989) Predicting toxicokinetic parameters in humans from toxicokinetic data acquired from three small mammalian species. *J. Appl. Toxicol.*, **9**:331-338.
- Backer, P. De; Braeckman, F. Belpaire, F. & Debackere, M. (1980) Bioavailability and pharmacokinetics of phenylbutazone in the cow. *J. Vet. Pharmacol. Therap.*, **3**:29-33.
- Baert, K. & De Backer, P. (2003) Comparative pharmacokinetics of three non-steroidal anti-inflammatory drugs in five bird species. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, **134**:25-33

- Baggot, J.D. (1977) Drug disposition in domestic animals: the basis of veterinary clinical pharmacology. W.B. Saunders, Philadelphia.
- Baggot, J.D. (1992) Bioavailability and bioequivalence of veterinary drug forms, with particular reference to horses: an overview. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, **15**:160-173.
- Baggot, J.D. (1992) Clinical pharmacokinetics in veterinary medicine. *Clin. Pharmacokinet.* **22** (4):254-273.
- Baggot, J.D. (1994) Application of interspecies scaling to the bispyridium oxime HI-6. *Am. J. Vet. Res.* **55**(5):689-691.
- Baggot, J. D. (2001) The Physiological Basis of Veterinary Clinical Pharmacology pp. 1-135 Blackwell Science, Londres.
- Bakke, O.M.; Draffan, G.H. & Davies, D.S. (1974) The metabolism of phenylbutazone in the rat. *Xenobiotica*, **4**(4):237-254.
- Barragry, T.B. (1973) Phenylbutazone in equine practice- A review. *Ir. Vet. J.*, **27**:7-11.
- Beal, S.L. & Sheiner, L.B. (1980) The NONMEM system. *American Statistician*, **34**:118-119.
- Belanger, P.; Labrecque, G. & Dore, F. (1982) Cronopharmacocinetique des agents AINS chez le rat. *Tribune Medicale*, supl. **1** :14-20.
- Belpaire, F.M.; Bogaert, M.G. & Mussche, M.M. (1977) Influence of acute renal failure on the protein binding of drugs in animals and in man. *European Journal of Clinical Pharmacology*, **11**(1):27-32.
- Benedict, F.G. (1938) Vita energetics: A study in comparative basal metabolism. *Carnegie Inst. Publ.*, **503**:1-215.
- Benson, G.J. & Thurmon, J.C. (1987) Species difference as a consideration in alleviation of animal pain and distress, *J.A.V.M.A.*, **191**(10):1227-1230.
- Bertalanffy, L. von (1951) Metabolic types and growth types. *Am. Naturalist* **85**:111-117
- Bertalanffy, L. von & Pirozynski, W.J. (1953) Tissue respiration, growth and basal metabolism. *Biol. Bull.* **106**:240-256.
- Björkman, S. & Redke, F. (2000) Clearance of fentanyl, alfentanil, methohexitone, thiopentone and ketamine in relation to estimated hepatic blood flow in several animal species: application to prediction of clearance in man. *J. Pharm. Pharmacol.*, **52**(9):1065-1074.
- Bogan, J.A.; Galbraith, A.; Baxter, P.; Ali, N.M. & Marriner, S.E. (1984) Effect of feeding on the fate of orally administered phenylbutazone, trimethoprim and sulphadiazine in the horse. *Vet. Rec.*, **115**(23):599-600.
- Bogan, J.A. Lees, P. & Yoxall, A.T. (eds.) (1986)
- Bolton, S. (1997) Pharmaceutical Statistics: Pratical and clinical applcations (3rd ed.). Drugs and the Pharmaceutical Sciences Series, M. Dekker, Nueva York.

- Bonate, P.L. & Howard, D. (2000a) Prospective allometric scaling: Does the emperor have clothes?. *J. Clin. Pharmacol.*, **40**:665-670.
- Bonate, P.L. & Howard, D. (2000b) Rebuttal to Mahmood. *J. Clin. Pharmacol.*, **40**:675-676.
- Bonner, J.T. (1965) *Size and Cycle*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Bonner, J.T. (1968) Size change in development and evolution. *J. Paleontology*, **42**(part II):1-15.
- Boothe, D.M. (1989) Controlling inflammation with non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Vet. Med.*, **84**:875-883.
- Botana, L.M.; Landoni, M.F. & Martín-Jiménez, T. (Eds.) (2002) *Farmacología y Terapéutica Veterinaria*. MacGraw-Hill-Interamericana, Madrid.
- Botting, R.M. (2000) Mechanism of action of acetaminophen: is there a cyclooxygenase 3? *Clin. Infect. Dis.* 31:5202-5210.
- Boudinot, F.D.; Williams, R.J. & Smith, J.A. (1990) Effect of non-linear plasma protein binding on unbound and total plasma phenylbutazone concentrations in cows. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, **13**(2):132-136.
- Boulos, B.; Jenkins, M.; Williams, L. & Davies, L.E. (1972) Pharmacokinetics of certain drugs in the domesticated goats. *American Journal of Veterinary Research*, **33**:943-953.
- Boxenbaum, H. (1980) Interspecies variation in liver weight, hepatic blood flow, and antipyrine intrinsic clearance extrapolation of data to benzodiazepines and phenytoin. *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **8**:165-176.
- Boxenbaum, H. (1982a) Interspecies scaling, allometry, physiological time and the ground plan of pharmacokinetics. *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **10**(2):201-227.
- Boxenbaum, H. (1982b) Comparative pharmacokinetics of benzodiazepines in dog and man. *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **10**:411-426.
- Boxenbaum, H. (1983) Evolutionary biology, animal behaviour, four-dimensional space, and the raison d'être of drug metabolism and pharmacokinetics. *Drug Metabolism Reviews*, **14**:1057-1097.
- Boxenbaum, H. (1984) Interspecies pharmacokinetic scaling and the evolutionary-comparative paradigm. *Drug. Metab. Rev.*, **15**:1071-1121.
- Boxenbaum, H. (1986) Time concepts in physics, biology and pharmacokinetics. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **75**(11):1053-1062.
- Boxenbaum, H. & Fertig, J.B. (1984) Scaling of antipyrine intrinsic clearance of unbound drug in 15 mammalian species. *Eur. J. Metab. Pharmacokinet.*, **9**:177-183.
- Boxenbaum, H. & Ronfeld, R. (1983) Interspecies pharmacokinetic scaling and the Dedrick plots. *Am. J. Physiol.*, **245**:768-775.

- Boxenbaum, H. & DiLea, C. (1995) First-time-in-human dose selection: allometry thoughts and perspectives. *J. Clin. Pharmacol.*, **35**:957-966.
- Boxenbaum, H. & D'Souza, R.W. (1990) Inter-species pharmacokinetic scaling, biological design and neoteny, en Testa, B. (ed.) *Advances in drug research*. Academic Press, London, pp. 139-196.
- Boyd, E. (1935) *The growth of the surface area of the human body*. University of Minnesota, Minneapolis.
- Brideau, C.; Van Staden, C y Chan C.C. (2001) In vitro effects of cyclooxygenase inhibitors in whole blood of horses, dogs and cats. *Am. J. Vet. Res.*, **62** (11):1755-1760.
- British Pharmacopoeia (1999) *Veterinary* (vol I). British Pharmac. Comission Office, London.
- Brodie, B.B. (1966) Pharmacological and clinical implications of drug transport, en *Transport function of proteins* (Desgrez y de Traverse), pp. 137-145. Elsevier, Amsterdam.
- Brody, S. (1945) *Bioenergetics and growth with special reference to the efficiency complex in domestic animals*. Reinhold, New York.
- Brooks, P.M. & Day, R.O. (1991) Nonsteroidal antiinflammatory drugs – differences and similarities. *New Engl. J. Med.*, **324** (24):1716-1725.
- Brown, S.L.; Brett, S.M.; Gough, M.; Rodricks, J.V.; Tardiff, R.G. & Turnbull, D. (1988) Review of interspecies risk comparisons. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, **8**:191-206.
- Bruguerolle, B. & Lemmer, B. (1993) Recent advances in chronopharmacokinetics: methodological problems. *Life Sci.*, **52**:1809-1824.
- Brune, K.; Glatt, M. & Graff, P. (1975) Mechanisms of action of antiinflammatory drugs. *Gen. Pharmacol.*, **7**:27-33.
- Brune, K. & Graf, P. (1977) Non steroid antiinflammatory drugs: influence of extracelular pH on biodistriobution and pharmacological effects. *Biochem. Pharmacol.*, **27**:525-530.
- Brune, K y Beck, W.S. (1991) Towards safer nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Agents & Actions* suppl., **32**:13-25.
- Budavary, S.; Oneil, M.J.; Smith, A.; Heckelman, P.E. (1989) Phenylbutazone, en *The Merck Index*, 11th edition. Merck & Co. (eds.) Whitehouse Station, Nueva Jersey, USA.
- Burns, J.J.; Rose, R.K.; Chenkin, T.; Goldman, A.; Schubert, A. & Brodie, B.B. (1953) The physiological fate of ohenylbutazone (Butazolidin®) in man and a method for its estimation in bioiocal material. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **109**:346-357.
- Burrows, G.E.; MacAllister, C.G.; Ewing, P.; Stair, E. & Burrows, S.L. (1992) Rifampin disposition in the horse: effects of repeated dosage of rifampin or phenylbutazone. *J. vet. Pharmacol. Therap.*, **15**:305-308.

- Calabrese, E.J. (1983) Principles of animal extrapolation. Wiley, New York.
- Calder III W.A. (1981) Scaling of physiological processes in homeothermic animals. *Ann. Rev. Physiol.*, **43**:301-322.
- Calder III W.A. (1984) Size, function and life history. Harvard University Press, Cambridge (MA).
- Caldwell, G.W.; Ritchie, D.M.; Masucci, J.A.; Hageman, W. & Yan, Z. (2001) The new pre-clinical paradigm: compound optimization in early and late phase drug discovery. *Curr. Top. Med. Chem.*, **1**(5):353-366.
- Campbell, D.B. (1994) Can allometric interspecies scaling be used to predict human kinetics? *Drug Info J.*, **28**:235-245.
- Cárceles Rodríguez, C.M. & Escudero Pastror, E. (2001). El medicamento veterinario: Aspectos legales. *Producción Animal*, **167**:90-102.
- Carlisle, C.H.; Penny, R.H.; Prescott, C.W. & Davidson, H.A. (1968) Toxic effects of phenylbutazone on the cat. *British Veterinary Journal*, **124**(12):560-568.
- Carpenter, J.W.; Mashima, T.Y. & Rupiper, D.J. (2001) Exotic animal formulary, 2ª edición, Saunders Co, Philadelphia.
- Carrel, A. (1931) Physiological Time. *Science*, **74**:618-621.
- Castaño-Bello, H. (1995) Control y regulación de la temperatura corporal, en Fisiología Veterinaria (García Sacristán, A. y cols., editores) MacGraw-Hill-Interamericana, Madrid, pp.1015-1024.
- Castells i Carles, G. (2001) Estudi al·lomètric del comportament cinètic del tiamfenicol en diferents espècies animals. Tesis doctoral. Facultat de Veterinaria, Universidad Autònoma de Barcelona.
- Chand, N. & Eyre, P. (1977) Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: a review. New applications in hypersensitivity reactions of cattle and horses. *Can. J. Comp. Med.*, **41**:233-240.
- Chand, N. & Eyre, P. (1978) Acute systemic anaphylaxis in adult domestic fowl – possible role of vasoactive lipids and peptides. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie*, **236**(1):164-176.
- Chandrasekharan, N.V.; Dai, H.; Roos, K.L.; Evanson, N.K.; Tomsik, J.; Elton, J.S. & Simmons, D.L. (2002) COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure and expresión. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **99**(21):13926-13931.
- Chay, S.; Woods, W.E.; Nugent, T.E.; Weckman, T.; Houston, T.; Sprinkle, F.; Blake, J.W.; Tobin, T.; Soma, L.R.; Yogum, J. & Smith, J.D. (1984) Population distributions of FBZ and OFBZ after oral and intravenous dosing in horses. *J. Vet. Pharmacol. Therap.*, **7**:265-276.
- Cheng, H.S.G. & Gross, J.F. (1979) Physiologically based pharmacokinetic models for anticancer drugs. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, **2**:85-94.

- Cheng, Z.; McKellar, Q.A.; Nolan, A. & Lees, P. (1996) Pharmacokinetics and pharmacodynamics of phenylbutazone and oxyphenbutazone in the donkey. *J. vet. Pharmacol. Therap.* **19**, 149-151.
- Cheng, Z.; Welsh, E.; Nolan, A. & McKellar, Q.A. (1997) Pharmacokinetic and pharmacodynamic studies on phenylbutazone and oxyphenbutazone in goats. *Veterinary Record*, **140**:40-43.
- Cheng, Z.; McKellar, Q.A. & Nolan, A. (1998) Pharmacokinetic studies of flunixin meglumine and phenylbutazone in plasma, exudate and transudate in sheep. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* **21**:315-321.
- Chignell, C.F. & Starkweather, D.K. (1971) Species differences in the binding of phenylbutazone to plasma albumin. *Pharmacology*, **5**:235-244.
- Chiou, W.L. & Hsu, F.H. (1988) Correlation of unbound plasma clearances of fifteen extensively metabolized drugs between humans and rats, *Pharm. Res.*, **10**:668-672
- Chung, K.F. (1997). Platelet activating factor revisited. *Thorax*. **52**: 1019-1020.
- Ciaccio, P.J. & Halpert, J.R. (1989) Characterization of a phenobarbital inducible dog liver cytochrome P450 structurally related to rat and human enzymes of the P450III_A (steroid-inducible) gene subfamily. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **271**:284-299.
- Clarke, C.R.; Short, C.R.; Bourne, D.W.A. & Usenik, E.A. (1989) Subcutaneously implanted tissue chambers – a pharmacokinetic study. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, **12**:312-321.
- Clarke, C.R.; Lochner, F.K. & Bellamy, J. (1992) Pharmacokinetics of gentamicin and antipyrine in the horse-effect of advancing age. *J. Vet. Pharmacol. Therap.*, **15**:309-313.
- Coakley, M.; Peck, K.E.; Taylor, T.S.; Matthews, N.S. & Mealey, K.L. (1999) Pharmacokinetics of flunixin meglumine in donkeys, mules, and horses. *American Journal of Veterinary Research*, **60** (11):1441-1444.
- Collins, L.G. & Tyler, D.E. (1984) Phenylbutazone toxicosis in the horse: a clinical study. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **184**(6):699-703.
- Coppi, G.; Bonardi, G. & Perego, R. (1972) Biochemical investigations of 4-prenyl-1,2-diphenyl-3,5-pyrazoldinedione (DA 2370). Part I: Serum levels and urinary excretion in rats, rabbits and dogs. *Arzneimittel Forschung (Drug Research)*, **22**:234-249.
- Core, A.M. (1990) Toxicology of nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Veterinary Clinics of North America*, **20**(2):419-430.
- Corral, C. & Martín Ortí, R. (1984) Alometría muscular aplicada a la región tibial de los pequeños rumiantes, *Medicina Veterinaria*, **1**(5-6):285-292
- Crisman, M.V.; Sams, R.A. & Irby, M.H. (1989) The disposition of phenylbutazone in lactating mares and its effects on nursing foals. 35th

- Proceedings of the American Association of Equine Practitioners, pp.125-131.
- Crisman, M.V.; Wilcke, J.R.; Sams, R.A. & Gerken, D.F. (1991) Concentrations of phenylbutazone and oxyphenbutazone in post-parturient mares and their neonatal foals. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **14**:330-334.
- Cristófol, C.; Valladares, J.E.; Martí, G. & Arboix, M. (2000) Pharmacokinetics of indomethacin in poultry. *Avian Dis.*, **44**:210-214.
- Crofford, L.J. (1977) Cox-1 and Cox-2 tissue expression: implication and predictions. *J. Rheumatol.*, **24** (suppl. 11):15-19.
- Cronstein, B.N. & Weissmann, G. (1995) Targets for antiinflammatory drugs. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **35**:449-462.
- Cryer, B. y Feldman, M. (1998) Cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 selectivity of widely used nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Am. J. Med.*, **104**:413-421.
- Cubo, J. y Casinos, A. (1998) The variation of the cross-sectional shape in the long bones of birds and mammals. *Annales des sciences naturelles zoologie et biologie animale*, **19**(1):51-62
- Cummings, N.A. & Nordby, G.L. (1966) Measurement of synovial fluid pH in normal and arthritic knees. *Arthritis. Rheum.*, **9**:47-56.
- Cyr, H.; Peters, R.H. & Downing, J.A. (1997) Population density and community size structure: Comparison of aquatic and terrestrial systems. *Oikos*, **80**(1):139-149
- Daehler, M.H. (1986) Transmural pyloric perforation associated with naproxen administration in a dog. *J.A.V.M.A.*, **189**(6):694-695.
- Davidian, M. & Gallant, A.R. (1992) Smooth nonparametric maximum likelihood estimation for population pharmacokinetics, with application to quinidine. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, **20**:529-561.
- Davidson, I.W.F.; Parker, J.C. y Beliles, R.P. (1986) Biological basis for extrapolation across mammalian species. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, **6**:211-237.
- Dayton, P.G.; Cucinell, S.A.; Weiss, S.A. & Perel, J.M. (1967) Dose-dependence of drug plasma level in decline in dogs. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **158**:305-316.
- Dayton, P.G.; Israili, Z.H. & Perel, J.M. (1973) Influence of binding on drug metabolism and distribution. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **226**:172-194.
- Dedrick, R.L. & Bishoff, K.B. (1980) Species similarities in pharmacokinetics. *Fed. Proc.*, **39**:54-59.
- Dedrick, R.L.; Bishoff, K.B. & Zaharko, D.Z. (1970) Interspecies correlation of plasma concentration history of methotrexate (NSC-740). *Cancer Chemotherapy Reports*, **54** (part I):95-101.

- Dedrick, R.L. (1973) Animal scale-up. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, **1**(5):435-461.
- De Backer, P.; Braeckman, R.; Belpaire, F. & Debackere, M. (1980) Bioavailability and pharmacokinetics of phenylbutazone in the cow. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, **3**:29-33.
- De Veau, E.J.I.; Pedersoli, W.; Cullison, R. & Baker, J. (1998) Pharmacokinetics of phenylbutazone in plasma and milk of lactating dairy cows. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, **21**:437-443.
- De Veau, E.J.I.; Pedersoli, W.; Cullison, R. & Baker, J. (2002) Pharmacokinetics of phenylbutazone in beef steers. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, **25**:195-200.
- Díaz, D.C.; Picco, E.J. & Boggio, J.C. (2003) Antiinflamatorios no esteroides: avances en la caracterización de su mecanismo de acción. *Panorama Actual Med.* **27**(259):80-85.
- Dieterle, W.; Faigle, J.W.; Früh, F.; Mory, H.; Theobald, W.; Alt, K.O. & Richter, W.J. (1976) Metabolism of phenylbutazone in man. *Arzneimittel-Forschung* **26**: 572-577.
- DiPasquale, G.; Rassaert, C.; Welaj, P. & Gingold, J. (1975) Effect of single and multiple treatments with phenylbutazone in normal and adjuvant-induced polyarthritic rats. *Agents & Actions*, **5**(1):52-56.
- Dixon, R.L. (1976) Problems in extrapolating toxicity data for laboratory animals to man. *Environmental Health. Perspect.*, **13**:43-50.
- Doménech Berrozpe, J. Martínez Lanao, J. & Plá Delfina, J.M. (editores) (1997). *Biofarmacia y Farmacocinética*. Volumen I: Farmacocinética. Síntesis, Madrid.
- Domenjoz, R. (1960) The pharmacology of phenylbutazone analogues. *Ann. New York Acad. Sci.*, **86**(1):263-291.
- Dray, A. & Bevan, S. (1993) Inflammation and hyperalgesia: highlighting the team effort. *Trends in Pharmacological Science*, **14**:287-290.
- D'Souza, R.W. & Boxenbaum, H. (1988) *Toxicol. Ind. Health* **4**:151.
- Dubois, D. & Dubois, E.F. (1916) Clinical calorimetry: Tenth paper. A formula to estimate the approximate surface area if height be known, *Arch. Inter. Med.*, **17**:863-872.
- Duthu, G.S. (1985) Interspecies comparison of the pharmacokinetics of erythromycin, oleandomycin and tylosin. *J. Pharm. Sci.*, **74**(9) :943-946.
- Duval, D. (1986) Action inhibitrice des glucocorticoides sur la synthèse de prostaglandines. *Presse. Méd.*, **45**:433-435.
- Eberhardson, B.; Olsson, G.; Appelgren, L.-E. & Jacobson, S.-O. (1979) Pharmacokinetic studies of phenylbutazone in cattle. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, **2**:31-37.

- Eberhart, D.C.; Gemzik, B.; Halvorson, M.R. & Parkinson, A. (1991) Species differences in the toxicity and cytochrome P450III A-dependent metabolism of digitoxin. *Molecular Pharmacology*, **40**:859-867.
- Edwards, N.A. (1975) Scaling of renal function in mammals. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **52**:63-66.
- Eltom, S.E.; Guard, C.L. & Schawark, W.S. (1993) The effect of age on phenylbutazone pharmacokinetics, metabolism and plasma protein binding in goats. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, **16**:141-151.
- Emmans, G.C. & Kyriazakis, I. (1997) Models of pig growth: problems and proposed solutions *Livestock Production Science*, **51**(1-3):119-129
- Engelke, A.; Meyer-Lindenberg, A. Kietzmann, M.; Lehmacher, W. & Nolte, I. (1995) Wirksamkeit und Vertraglichkeit der Kombination Phenylbutazon/Prednisolon im Vergleich zum Monopräparat Phenylbutazon bei Erkrankungen des Bewegungsapparates beim Hund. *Kleintierpraxis*, **40**(9):669-679.
- Espinós Pérez, D. (1999). Farmacología de la Inflamación. Discurso de apertura del curso, sesión inaugural. Real Academia de Farmacia.
- Fagan, D.; Merlie, J.; Siegel, N.; Raz, A.; Mudd, J. & Needleman, P. (1989) Complementary DNA clone for sheep seminal vesicle prostaglandin endoperoxide synthase (cyclooxygenase) *Adv. Prostaglandin Thromboxane Leukot. Res.*, **19**:42-48.
- Faigle, J.W. & Dieterle, W. (1977) The biotransformation of phenylbutazone. *J. Int. Med. Res.*, **5**(2):2
- Farr, M. & Willis, J.V. (1977) Investigation of phenylbutazone in synovial fluid. *Journal of International Medical Research* **5**:26-29
- Feria, M. (1997) Fármacos analgésicos-antitérmicos y antiinflamatorios no esteroideos, en Farmacología Humana (3ª edic.) Dir. J. Flórez, Masson, Barcelona.
- Fernández de Gatta, M.M. (1996) Introducción a la Farmacocinética de Poblaciones. II Curso teórico-práctico de Farmacocinética avanzada (Salamanca, 24-28 junio).
- Ferreira, S.H. & Vane, J.R. (1979) Mode of action of antiinflammatory agents which are prostaglandin synthetase inhibitors. En *Anti-inflammatory Drugs*. Eds. J.R. Vane and S.H. Ferreira, Handbook of experimental Pharmacology, vol. 50/II, Spfinger, NY, chapter 31.
- Fichtl, B. & Kurz, H. (1978) Binding of drugs to human muscle. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **14**(5):335-340.
- Finochio, E.J.; Ozog, F.J.; Oehme, F.W.; Johnson, J.H. & Osbaldiston, G.W. (1970) Detection of phenylbutazone and oxyphenbutazone in the urine of thoroughbreds. *J.A.V.M.A.*, **156**:454-456.

- Firth, E.C.; Nouws, J.F.M.; Klein, W.R. & Driessen, F. (1990) The effect of phenylbutazone on the plasma disposition of penicilin G in the horse. *J. vet. Pharmacol. Therap.*, **13**:179-185.
- Fisher, R. (1966) Biological time, en *The voices of time*. Fraser, Neew York, pp. 357-382.
- Flórez, J. & Amado, J.A. (1997) Esteroides corticales y antiinflamatorios esteroideos, en *Farmacología Humana* (3ª edic.) Dir. J. Flórez, Masson, Barcelona.
- Fowler, J.N. (1989) en Svendsen, E.D. (ed.), *The professional handbook of the donkey*. The Donkey Sanctuary, Sidmouth, Devon, U.K., pp. 101-109.
- Fraser, C.M.; Bergeron, J.A.; Mays, A. & Aiello, S.E. (1993) Agentes antiinflamatorios y tratamiento de inflamaciones, en; *Manual Merck de Veterinaria* (4ª edic.) Merck & Co., pp. 737-747.
- Frears, S.L.; Webb, P.I. & Telford, S.R. (1996) The allometry of metabolism in southern African millipedes (Myriapoda: Diplopoda). *Physiological Entomology*, **21**(3):212-216
- Fryc, J. & Gogolewski, L. (1981) Experiences on the therapeutic use of Dexa-Tomanol in dogs and cats (phenylbutazone-isopyrin). *Tierärztliche Umschau*, **36**(7):498-505.
- Fu, J.Y.; Masferrer, J.L.; Seibert, K.; (1990) The induction and supression of prostaglandin H2 synthase (cyclooxygenase) in human monocytes. *J. Biol. Chem.*, **265**:16737-16740.
- Fujimura, H.; Tsurumi, K.; Morii, I. & Suzuki, T. (1977) Antiinflammatory properties of suxibuzone, in comparison with phenylbutazone and ketophenylbutazone. *Pharmacometrics*, **14**(3):379-390.
- Gabriel, K.L. & Martin, J.E. (1962) Phenylbutazone: short-term versus long-term administration to throughbreds and standardbreds. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **140**(4):337-341.
- Gabrielli, A.; Leoni, P.; Danielli, G.; Herrmann, K.; Krieg, T. & Wieslander, J. (1987) Methrotexate and nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *British Medical Journal*, **294**:776.
- Gaetani, M.; Debeus, R.; Vidi, A. & Coppi, G. (1972) Toxicological investigations of 4-prenyl-1,2-diphenyl-3,5-pyrazolidinedione (DA 2370). *Arzneim. Forsch. (Drug Res.)*, **22**(1):226-234.
- Galilei, Galileo (1638) *Dialogues Concerning Two New Sciences* (edición facsimil) Alfonso De Salvio y Henry Crew (traductores). Prometheus, 1991.
- Gallin, J.L., Goldstein, I.M.; Snyderman, R. (1992) (Eds.) *Inflammation: Basic Principles, Clinical Correlates*, 2ª ed. Raven Press, Nueva York.

- Gandal, C.P.; Dayton, P.G.; Werner, M. & Perel, J.M. (1968) Studies with phenylbutazone, oxyphenbutazone and para-paradichloro phenylbutazone in horses. *Cornell Vet.*, **59**:577-580.
- Garavito, R.M. & De Witt, D.L. (1999) The cyclooxygenase isoforms: structural insights into the conversion arachidonic acid to prostaglandins. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1441**:278-287.
- Gascón, A.R.; Calvo, B.; Hernández, R.M.; Domínguez-Gil, A. & Pedraz, J.L. (1994) Interspecies scaling of cimetidine-theophylline pharmacokinetic interaction: Interspecies scaling in pharmacokinetic interactions. *Pharmaceutical Research*, **11** (7): 945-950.
- Gaspari, F. & Bonati, M. (1990) Interspecies metabolism and pharmacokinetic scaling of theophylline disposition. *Drug. Metab. Rev.*, **22**:179-207.
- Gerken, D.F. & Sams, R.A. (1988) Pharmacokinetics of oxyphenbutazone in horses. *J. vet. Pharmacol. Therap.*, **11**:283-287.
- Gerlowski, L.E. & Jain, R.K. (1983) Physiologically based pharmacokinetic modeling: principles and applications. *J. Pharm. Sci.*, **72**: 1103-1106.
- Gerring, E.L. & Lees, P. (1981) Pharmacokinetics of oxyphenbutazone in horses. *Equine Vet. J.*, **13**:467-476.
- Gerring, E.L.; Lees, P. & Taylor, J.B. (1981) Pharmacokinetics of phenylbutazone and its metabolites in the horse. *Equine vet. J.*, **13**(3):152-157.
- Gibaldi, M. & Perrier, D. (1982) Pharmacokinetics. Marcel Dekker, N. York.
- Gill, J.L. & Hafs, H.D. (1971) Analysis of repeated measurements of animals. *Journal of Animal Science*, **33**(2):331-336.
- Gillette, J.R.; Davis, D.C. & Sasame, H.A. (1972) Cytochrome P-450 and its role in drug metabolism. *Annu. Rev. Pharmacol.*, **12**:57-84.
- Glatz, P.C.; Murphy, L.B. & Preston, A.P. (1992) Analgesic therapy of beak-trimmed chickens. *Australian Veterinary Journal*, **69**(1):18
- González, F.J.; Song, B.J. & Harwick, J.P. (1986) Pregnenolone 16 alpha-carbonitrile-inducible P-450 gene family: gene conversion and differential regulation. *Molecular and Cell Biology*, **6**:2969-2976.
- González Alonso, I. (1996) Modelos fisiológicos. II Curso teórico-práctico de farmacocinética avanzada, Salamanca, 24-28 de junio.
- Goodman, A., Goodman, L. & Gilman, A. (1982) Bases farmacológicas de la terapéutica (6ª ed.). Panamericana, Buenos Aires.
- Guerra López, P. (1999) Prescripción de fármacos en el niño. *Farmacoterapia*, **XVI** (3): 146-152.
- Gunson, D.E. & Soma, L.R. (1983) Renal papillary necrosis in horses after phenylbutazone and water deprivation. *Vet. Pathol.*, **20**:603-610.
- Gunther, B.N. (1975) On theories of biological similarity. Fortschritt der experimentellen und theoretischen Biophysik (19 edic.) Beier, Leipzig.

- Gupta, K.C.; Joshi, J.V.; Hazari, K.; Pohujani, S.M. & Satoskar, R.S. (1982) Effect of low estrogen combination oral contraceptive on metabolism of aspirin and phenylbutazone. In. *J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.*, **20**(11):511-513.
- Guthrie, A.J.; Short, C.R.; Swan, G.E.; Mülders, M.S.G.; Killeen, V.M. & Nurton, J.P. (1996) Characterization of a sterile soft-tissue inflammation model in Thoroughbred horses. *J. Vet. Pharmacol. Therap.*, **19**:44-49.
- Gutman, A.B.; Dayton, P.G. & Yu, T.F. (1960) A study of the inverse relationship between pKa and rate of renal excretion of phenylbutazone analogues in man and dog. *Am. J. Med.*, **29**:1017-1033.
- Haaksma, E.E.J., Leurs, R. & Timmerman, H. (1990). Histamine receptors: subclasses and specific ligands. *Pharmacol. Ther.* **47**:73-104.
- Haldane, J.B.S. (1928) On being the right size (pp. 20-28), en Possible Worlds. Harper, Nueva York.
- Hanada, S.; Mengardo, S. & Oga, S. (1987) Bioavailability and anti-inflammatory effects of phenylbutazone sodium and phenylbutazone calcium in rats. *Bollettino Chimico Farmaceutico*, **126**(5):203-207.
- Hardie, E.M.; Hardee, G.E. & Rawlings, C.A. (1985) Pharmacokinetics of flunixin-meglumine in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, **46**(1):235-237.
- Hargreaves, R. (1985) Doña Menudita. Editorial Alhambra. Madrid. España.
- Hargreaves, R. (1988) Don Diminuto. Editorial Alhambra. Madrid. España.
- Harwood, P.D. (1963) Therapeutic dosage in small and large animals. *Science*, **139**:684-685.
- Hayton, W.L. (1989) Pharmacokinetic parameters for interspecies scaling using allometric techniques. *Health Physics*, **57**(1):159-164.
- Heidrich, H.J. & Roters, H. (1979) Doppelblindversuch über den Wert einer Tomanol-Zusatztherapie bei del akuten Mastitis des Rindes. *Dtsch. Tierärztl. Wsch.*, **86**:473-476.
- Hendriks, A.J. & Heikens, A. (2001) The power of size. Rate constants and equilibrium ratios for accumulation of inorganic substances related to species weight. *Environ. Toxicol. Chem.*, **20**(7):1421-1437.
- Herrmann, B. (1959) *Med. Exp.* (Basel), **1**:70.
- Hickman, C.P.; Roberts, T.S. & Hickman, F.M. (1992) Zoología. Principios integrales. Interamericana-MacGraw-Hill, Madrid.
- Higgins, A.J.; Lees, P. & Taylor, J.B. (1984) Influence of phenylbutazone on eicosanoid levels in equine acute inflammatory exudate. *Cornell Vet.*, **74**:198-207.
- Hildebrand, M. (1994) Inter-species extrapolation of pahrmacokinetic data of three prostacyclin-mimetics. *Prostaglandins*, **48**:297-312.
- Himmelstein, K.J. & Lutz, R.J. (1979) A review of the applications of physiologically based pharmacokinetic modeling. *J. Pharmacokinet. Biop.*, **7**:127-145.

- Hinchcliff, K.W.; MacKeever, K.H.; Muir III, W.W. & Sams, R.A. (1995) Pharmacologic interaction of furosemide and phenylbutazone in horses. *Am. J. Vet. Res.*, **56**(9):1206-1212.
- Holmen-Christensen, H. & Nielsen, G.H. (1967) Plasma concentrations of monophenylbutazone, phenylbutazone, and ketophenylbutazone after intravenous administration to rats and mice. *Acta Pharmacol. Toxicol.* (Copenhage), **25** (suppl. 4):42.
- Hoppeler, H. & Weibel, E.R. (1998) Limits for oxygen and substrate transport in mammals. *Journal of Experimental Biology*, **201**(8):1051-1064
- Horspool, L.J.L. & McKellar, Q.A. (1990) Disposition of oxytetracycline in horses, ponies and donkeys after intravenous administration. *Equine Vet. J.* **22**:284-295.
- Horspool, L.J.L. Sarasola, P. & McKellar, Q.A. (1992) Disposition of ampicilline sodium in horses, ponies and donkeys after intravenous administration. *Equine Vet. J.* **11** (suppl.):56-61.
- Houston, T.S.; Chay, W.E.; Woods, G.; Combs, S.; Kamerling, J.W.; Blake, A.G.; Edmunson, R.; Vessiney, R. & Tobin, T. (1985) Phenylbutazone and its metabolites in plasma and urine of thoroughbred horses: population distribution and effects of urinary pH. *J. vet. Pharmacol. Therap.*, **8**:136-149.
- Hutcheson, H.J. & Oliver, J.H. (1996) Multivariate morphometrics of larvae of the blacklegged tick (*Ixodes scapularis*) with notes on nomenclature. *Journal of Parasitology*, **82** (6):916-925.
- Huxley, J.S. & Teissier, G. (1936a) Terminology of relative growth. *Nature*, **137**:780-781.
- Huxley, J.S. & Teissier, G. (1936b) Terminologie et notation dans la description de la croissance relative. *Comptes Rendus des Séances de la Société de Biologie*, **121**:934-937.
- Hvidberg, E.F. & Rasmussen, F. (1975) Pharmacokinetics of phenylbutazone and oxyphenbutazone in the pig. *Can. J. Comp. Med.*, **39**(1):80-88.
- Imamura, Y.; Nakamura, H. & Otagiri, M. (1986) Effect of phenylbutazone on serum protein binding of sulfadimethoxine in different animal species. *J. Pharmacobio. Dyn.*, **9**:694-696.
- Imamura, Y.; Nakamura, H. & Otagiri, M. (1989) Effect of phenylbutazone on serum protein binding and pharmacokinetic behaviour of sulfadimethoxine in rabbits, dogs and rats. *J. Pharmacobio-Dyn.*, **12**:208-215.
- Ings, R.M.J. (1990) Interspecies scaling and comparisons in drug development and toxicokinetics. *Xenobiotica*, **20**:1201-1231.
- Insel, P.A. (1998) Agentes analgésicos-antipiréticos y antiinflamatorios; drogas empleadas en el tratamiento de la artritis reumatoidea y la gota, en

- Las bases farmacológicas de la terapéutica (Goodman & Gilman) MacGraw-Hill-Interamericana, México, pp. 661-690.
- Ito, N.M.K. & Bohm, G.M. (1986) Turpentine-induced acute inflammatory response in *Gallus gallus*: oedema, vascular permeability and effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Research in Veterinary Science*, **41**(2):231-236.
- Iwatsubo, T.; Hirota, N.; Ooie, T.; Suzuki, H.; Shimada, N.; Chiba, K.; Ishizaki, T.; Green, C.E.; Tyson, C.A. & Sugiyama, Y. (1997) Prediction of in vivo drug metabolism in the human liver from in vitro metabolism data. *Pharmacology and Therapeutics*, **73**(2):147-171.
- Jack, D.B. (1985) Factors contributing to variability in drug pharmacokinetics. III. Metabolism. *J. Clinical and Hospital Pharmacy*, **10**:25-43.
- Jackson Roberts II, L. & Morrow, J.D. (2003) Analgésicos antipiréticos y antiinflamatorios, y fármacos antigotosos, en Las bases farmacológicas de la terapéutica (Goodman & Gilman) MacGraw-Hill-Interamericana, México, pp. 697-742.
- Jähnchen, E. & Levy, G. (1972) Inhibition of phenylbutazone elimination by its metabolite oxyphenbutazone. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **141**:963-965.
- Jähnchen, E. & Levy, G. (1972) Determination of phenylbutazone in plasma. *Clinical Chemistry*, **18**(9):984-986
- Jain, N.K.; Vegad, J.L.; Katiyar, A.K. & Awadhiya, R.P. (1995) Effects of anti-inflammatory drugs on increased vascular permeability in acute inflammatory response in the chicken. *Avian Pathology* **24**(4):723-729.
- Jaráiz, V. (1997) Estudio farmacocinético y de bioequivalencia tras la administración intravenosa y oral (granulado y pasta) de suxibuzona a caballos. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria, U.C.M.
- Jaráiz, V.; Rodríguez, C.; San Andrés, M.D.; González, F. & San Andrés, M.I. (1999a) Pharmacokinetics and bioequivalence of two suxibuzone oral dosage forms in horses. *J. vet. Pharmacol. Therap.*, **22**:247-254.
- Jaráiz, V.; Rodríguez, C.; San Andrés, M.D.; González, F. & San Andrés, M.I. (1999b) Disposition and tolerance of suxibuzone in horses. *Equine Vet. J.*, **31**(5):411-416.
- Jaussaud, P.; Courtot, D.; Doron, P. & Guyot, J.L. (1985) Chronopharmacocinétique de la phénylbutazone chez le cheval. Application au contrôle antidopage. *Ann. Rech. Vét.*, **16**(4):385-391.
- Jeffcott, L.B. & Colles, C.M. (1977) Phenylbutazone and the horse. A review. *Equine Veterinary Journal*, **9** (3): 105-110.
- Jenkins, W.L. (1987) Pharmacological aspects of analgesic drugs in animals: An overview. *J. Am. Vet. Med. Ass.* **191**: 1231-1240.

- Jenny, E.; Steijnijans, V.W. & Seifert, P. (1979) Pharmacokinetic interaction of isopropylaminophenazone and phenylbutazone in the horse. *J. vet. Pharm. Therap.*, **2**:101-108.
- Jervis, M. (1998) Functional and evolutionary aspects of mouthpart structure in parasitoid wasps. *Biological Journal of the Linnean Society*, **63**(4):461-493
- Johnson, C.B.; Taylor, P.M.; Young, S.S. & Brearly, J.C. (1993) Postoperative analgesia using phenylbutazone, flunixin and carprofen in horses. *The Veterinary Record*, **133**:336-338.
- Jones, C.J. y Budenberg, S.C. (2000) Physiologic characteristics and clinical importance of the cyclooxygenase isoforms in dogs and cats. *JAVMA*, **217**(5):721-729.
- Jouglar, J.Y. & Bernard, G. (1992) Indications, modalités pratiques et précautions particulières d'emploi des anti-inflammatoires chez les oiseaux. *Rec. Méd. Vét.*, **168**:745-747.
- Kadir, A.; Ali, B.H.; Al Hadrami, G.; Bashir, A.K.; Landoni, M.F. & Lees, P. (1997) Phenylbutazone pharmacokinetics and bioavailability in the dromedary camel (*Camelus dromedarius*). *J. vet. Pharmacol. Therap.* **20**:54-60.
- Kallings, P. (1993) Non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Vet. Clin. North. Am. Equine Pract.* **9**(3):523-541.
- Kaplan-Machlis, B. & Storyk Klostemeyer, B. (1999) The cyclooxygenase-2 inhibitors: safety and effectiveness. *The Annals of Pharmacotherapy*, **33**:979-988.
- Kari, F.; Bucher, J.; Haseman, J.; Eustis, S. y Huff, J. (1995) Long-term exposure to the anti-inflammatory agent phenylbutazone induces kidney tumors in rats and liver tumors in mice. *Jpn. J. Cancer Res.*, **86**:252-263.
- Keller, H. & Hashem, A. (1996) Untersuchungen zum Konzentrationsverlauf verschiedener Phenylbutazonformulierungen im plasma des Pferdes. *Dtsch. tierärztl. Wsch.*, **103**(6):225-230.
- Kietzmann, M.; Meyer-Lindenberg, A.; Engelke, A. y Nolte, I. (1996) Pharmakokinetik und Verträglichkeit eines oral verabreichten Kombinationspräparates mit den Inhaltsstoffen Phenylbutazon und Prednisolon beim Hund. *Dtsch. tierärztl. Wsch.*, **103**(1):14-16.
- Kirkwood, J.K. (1991) Energy requirements for maintenance and growth of wild mammals, birds and reptiles in captivity. *Journal of Nutrition*, **121**(11S):S29-S34.
- Kirkwood, J.K. & Merriam, J. (1990) Variation in plasma half-life of gentamicin between species in relation to bodyweight and taxonomy. *Research in Veterinary Science*, **49**:160-165.
- Kirkwood, J.K. & Widdowson, M.A. (1990) Interspecies variation in plasma half-life of oxytetracycline in relation to bodyweight. *Research in Veterinary Science*, **48**:180-183.

- Kitagawa, H.; Kamataki, T. y Yoshida, S. (1968) Studies on drug metabolism IV. Effects of high dose administration of pentobarbital and phenylbutazone on the plasma biologic half lives in various species. *Chem. Pharm. Bull.*, **16**(12):2320-2323.
- Klaus, A.M. & Hapke, H.J. (1994) Die dopingproblematik im Pferdesport-Pharmakokinetik ausgewählter dopingrelevanter Antiphlogistika/Analgetika. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.*, **101**(8):331-338
- Kleiber, M. (1932) Body size and metabolism. *Hilgardia*, **6**:315-353.
- Kleiber, M. (1947) Body size and metabolic rate. *Physiol. Rev.*, **27**:511-541.
- Kleiber, M. (1975) Metabolic turnover rate: a physiological meaning of the metabolic rate per unit of body weight. *J. Theor. Biol.*, **53**:199-204.
- Kore, A.M. (1990) Toxicology of nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, **20**(2):419-430.
- Kosa, T.; Maruyama, T. y Otagiri, M. (1997) Species differences of serum albumins: I. Drug binding sites. *Pharmaceutical research*, **14**(11):1607-1612.
- Krasovskij, G.N. (1975) Species and sex differences insensitivity to toxic substances, en Methods used in the USSR for establishing biologically safe levels of toxic substances. WHO, Ginebra.
- Krasovskij, G.N. (1976) Extrapolation of experimental data from animals to man. *Environ. Health Perspect.*, **13**:51-58.
- Kujubu, D.A. & Herschman, H. (1992) Dexamethasone inhibits mitogen induction of the TIS10 prostaglandin synthase/cyclooxygenase gene. *J. Biol. Chem.* **267**:7991-7994.
- Kulkarni S.K., Jain, N.K. y Singh A. (2000) Cyclooxygenase isoenzymes and newer therapeutic potential for selective COX-2 inhibitors. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, **22** (5): 291-298.
- Laik, S.L. (1982) Phemylbutazone, en Analytical profiles of drug substances, vol.II, pp. 483-521. Academic Press, NJ.
- Lamanna, C. & Hart, E.R. (1968) Relationship of lethal toxic dose to body weight of the mouse. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **13**:307-315.
- Lambert, M.B.T. & Kelly, P.P. (1978) The binding of phenylbutazone to bovine and horse serum albumin. *Irish Journal of Medical Science*, **147**(6):192-196.
- Landoni, M.F. (1996) Actualización del mecanismo de acción de los AINEs. *Avances en Medicina Veterinaria*, **1**(1):14-16.
- Landoni, M.F. (2002) Antiinflamatorios no esteroides. Comunicación personal. Citado por Díaz y cols. (2003).
- Landuyt, J.; Delbeke, F.T. y Debackere, M. (1993) The intramuscular bioavailability of a phenylbutazone preparation in the horse. *J. vet. Pharmacol. Therap.*, **16**:494-500.
- Laneuville, O.; Breuer, D.K.; Dewitt, D.L.; Hla, T.; Funk, C. D. y Smith, W.L. (1994) Differential inhibition of human prostaglandin endoperoxide

- H synthases-1 and -2 by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **271** (2): 927-934.
- Lashev, L.D. & Pashov, D.A. (1992) Interspecies variations in plasma half-life of ampicilin, amoxycilin, sulphadimidine and sulphacetamide related to variations in body mass. *Research in Veterinary Science*, **53**:160-164.
- Lavé, T.; Levet-Trafit, B.; Schmitt-Hoffmann, A.; Morgenroth, B.; Richter, W. & Chou, R.C. (1995)
- Lavé, T.; Schmitt-Hoffmann, A.; Coassolo, P.; Ubeaud, G.; Vallós, B.; Ba, B.; Brandt, R. & Chou, R.C. (1995) A new extrapolation method from animal to man: application to a metabolized compound, mofarotene. *Life. Sci.*, **56**:473-478.
- Lavé, T.; Coassolo, P.; Ubeaud, G.; Brandt, R.; Schmitt, C.; Dupin, S.; Jaeck, D. & Chou, R.C. (1996a) Inter-species scaling of bosentan, a new endothelin receptor antagonist and integration of in vitro data into allometric scaling. *Pharm. Res.*, **13**:97-101.
- Lavé, T.; Dupin, S. & Schmitt, C.; Kapps, M.; Meyer, J.; Morgenroth, B.; Chou, R.C. & Jaeck, D. (1996b) Inter-species scaling of tolcapone, a new inhibitor of catechol-O-methyltransferase (COMT). Use of in vitro data from hepatocytes to predict metabolic clearance in animals and humans. *Xenobiotica*, **26**:839-851.
- Lavé, T.; Dupin, S. & Schmitt, C. (1997) Integration of in vitro data into allometric scaling to predict hepatic metabolism clearance in man: Application to 10 extensively metabolized drugs. *J. Pharm. Sci.*, **86**:584-590.
- Lavé, T.; Portmann, R.; Schenker, G.; Gianni, A.; Guenzi, A.; Girometta, M.A. & Schmitt, M. (1999) Interspecies pharmacokinetic comparison and allometric scaling of napsagatran, a low molecular weight thrombin inhibitor. *J. Pharm. Pharmacol.*, **51**:85-91.
- Lavy, E.; Ziv, G. y Glickman, A. (1994) Pharmacokinetics of norfloxacin in the donkey (*Equus asinus*). Proc. 6th Intern. Congr. European Association for Veterinary Pharmacology and Toxicology (EAVPT), Edinburgo, Aug. 7-11, pp. 52-53.
- Lavy, E.; Ziv, G.; Aroch, I. & Glickman, A. (1995a) Pharmacokinetics, intramuscular bio-availability, and bioequivalence of amoxycilin in donkeys. *J. Vet. Med. B*, **42**:284-292.
- Lavy, E.; Ziv, G. & Glickman, A. (1995b) Intravenous disposition kinetics, oral and intramuscular bioavailability and urinary excretion of norfloxacin nicotinate in donkeys. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, **18**(2):101-107.
- Laznicek, M.; Laznicova, A.; Stetovska, M. & Kvetina, J. (1990) Interspecies pharmacokinetic scaling of some iodinated organic acids. *J. Pharm. Pharmacol.*, **42**:496-499.

- Lees, P.; Maitho, T.E.; Millar, J.D. & Taylor, J.B. (1983) Pharmacokinetics of phenylbutazone in Welsh Mountain ponies. *ACVT Proceedings*, **7**:32-37.
- Lees, P. & Higgins, A.J. (1985) Clinical pharmacology and therapeutic uses of nonsteroidal antiinflammatory drugs in the horse. *Equine Vet. J.*, **17**:83-96.
- Lees, P.; Maitho, T.E. & Taylor, J.B. (1985) Pharmacokinetics of phenylbutazone in two age groups of ponies: a preliminary study. *Vet. Rec.* **2**:229-232.
- Lees, P.; Higgins, A.J.; Mawhinney, I.C. & Reid, D.S. (1986a) Absorption of phenylbutazone from a paste formulation administered orally to the horse. *Res. Vet. Sci.*, **41**(2):200-206.
- Lees, P.; Taylor, J.B.O.; Higgins, A.J. & Sharma, S.C. (1986b) Phenylbutazone and oxyphenbutazone distribution into tissue fluids in the horse. *J. vet. Pharm. Therap.*, **9**:204-212.
- Lees, P.; Taylor, J.B.O.; Maitho, T.E.; Millar, J.D. & Higgins, A.J. (1987) Metabolism, excretion, pharmacokinetics and tissue residues of phenylbutazone in the horse. *Cornell Veterinarian*, **17**:192-211.
- Lees, P.; Ayliffe, T.; Maitho, T.E. & Taylor, B.O. (1988) Pharmacokinetics, metabolism and excretion of phenylbutazone in cattle following intravenous, intramuscular and oral administration. *Research in Veterinary Science* **44**:57-67.
- Lees, P.; May, S.A. y MacKellar, Q.A. (1991) Pharmacology and therapeutics of non-steroidal antiinflammatory drugs in dog and cat: General pharmacology *J. Small Animal Practice*, **32**:183-193.
- Lees, P.; Landoni, M.F.; Armstrong, S. & Frean, S. (2000) New insights into inflammation with particular reference to the role of COX enzymes. Plenary session. 8th International Congress of the E.A.V.P.T., Jerusalén (Israel), 30 julio-3 agosto.
- Lehmann, W.; Wintzer, H.J. & Frey, H.H. (1981) Kinetik einiger analgetisch-antiinflammatorischer Arzneimittel in Serum und Synovia beim Pferd. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, **6**:218-220.
- Levine, R.L. & Clark, B.B. (1982) Farmacología: Acciones y reacciones medicamentosas. Salvat ed., Barcelona, pág. 260
- Levy, M. (2000) Hypersensitivity to pyrazolones. *Thorax*, **55** (suppl.2):S72-S74
- Lieberman, L.L. (1954) The use of phenylbutazone (Butazolidin) in the treatment of posterior paralysis and arthritis in dogs. *J.A.V.M.A.*, **august**:128-129.
- Lin, J.H.; Sugiyama, Y.; Awazy, S. & Hanano, M. (1982) Physiological pharmacokinetics of ethoxybenzamide based on biochemical data obtained *in vitro* as well as on physiological data. *J. Pharmacokinet. Biop.* **10**:649-661

- Lin, J.H. (1995) Species similarities and differences in pharmacokinetics. *Drug. Metab. Dispos.* **23**:1008-1021.
- Lindstedt, S.L. & Calder, W.A. (1981) Body size, physiological time, and longevity of homeothermic animals. *Quart. Rev. Biol.*, **56**:1-16
- Lindstedt, S.L. & Thomas, R.G. (1994) Exercise performance of mammals: an allometric perspective. *Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine*, **38B**:191-217.
- Lindstedt, S.L. & Schaeffer, P.J. (2002) Use of allometry in predicting anatomical and physiological parameters of mammals. *Laboratory animals*, **36**(1):1-19.
- Lorenzo Velázquez, B. (1970) La terapéutica antiflogística en la actualidad. *Arch. Fac. Med.* **5**: 365-387.
- MacAllister, C.G. (1994) Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: Their mechanism of action and clinical uses in horses. *Veterinary Medicine*, **March**:237-240.
- MacAllister, C.G.; Morgan, S.J.; Borne, A.T. & Pollet, R.A. (1993) Comparison of adverse effects of phenylbutazone, flunixin meglumine and ketoprofen in the horse. *J.A.V.M.A.*, **202**(1):71-77.
- MacCormack, K. y Brune, K. (1991) Dissociation between the antinociceptive and the anti-inflammatory effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs: a survey of their analgesic efficacy. *Drugs*, **41**:533-547.
- MacDaniel, C.D.; Balog, J.M.; Freed, M.; Elkin, R.G.; Wellenreiter, R.H. & Hester, P.Y. (1993) Response of layer breeders to dietary acetylsalicylic acid and its metabolites in urine by direct injection. *J. Chromatogr. B*, **493**: 93-104.
- MacKay, R.J.; French, T.W.; Nguyen, H.T. & Mayhew, I.G. (1983) Effects of large doses of phenylbutazone administration to horses. *Am. J. Vet. Res.*, **44**(5):774-780.
- MacKellar, Q.A.; Pearson, T.; Bogan, J.A.; Galbraith, E.A.; Lees, P.; Ludwig, B. & Tiberghien, M.P. (1990) Pharmacokinetics, tolerance and serum thromboxane inhibition of carprofen in the dog. *Journal of Small Animal Practice*, 443-448.
- MacKellar, Q.A.; May, S.A. & Lees, P. (1991) Pharmacology and therapeutics of non-steroidal anti-inflammatory drugs in dog and cat: 2 individual agents. *Journal of Small Animal Practice*, **32**:225-235.
- MacKellar, Q.A.; Baggot, J.D.; Cunningham, F.M.; Evans, R.J.; Lees, P.; Nolan, A.M. & Williams, R.B. (1995). Toxicology and Pharmacology. En Higgins, A.J. & Wright, I.M. The equine manual. W.B. Saunders Co. Ltd. Londres, pp. 217-229.
- MacMahon, T.A. (1973) Size and shape in biology. *Science*, **179**:1201-1204.

- MacMahon, T.A. (1975a) Allometry and biomechanics: limb bones in adult ungulates. *American Naturalist*, **109**:547-536.
- MacMahon, T.A. (1975b) Using body size to understand the structural design of animals: quadrupedal locomotion. *J. Appl. Physiol.*, **39**:619-627.
- MacMahon, T.A. & Bonner, J.T. (1986) Tamaño y vida. Scientific American Books, NY.
- MacNamara, P.G. (1991) Interspecies scaling in pharmacokinetics, en Pharmaceutical Bioequivalence (Welling, P.G.; Tse, F.L.S. & Dighe, S.V., eds.). Marcel Dekker, New York.
- Mahmood, I. (1996) Interspecies scaling: predicting clearance of anticancer drugs in humans. A comparative study of three different approaches using body weight or body surface area. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, **21**(3):275-278
- Mahmood, I. (1998a) Interspecies scaling: Predicting volumes, mean residence time and elimination half-life. Some suggestions. *J. Pharm. Pharmacol.*, **50**:493-499.
- Mahmood, I. (1998b) Interspecies scaling of renally secreted drugs. *Life Sciences.*, **63** (23):2365-2371.
- Mahmood, I. (1999) Allometric issues in drug development. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **88**(11):1101-1106.
- Mahmood, I. (2000) Critique of prospective allometric scaling: Does the emperor have clothes? *J. Clin. Pharmacol.*, **40**:671-674.
- Mahmood, I. (2000) Interspecies scaling: role of protein binding in the prediction of clearance from animals to humans. *J. Clin. Pharmacol.*, **40**:1439-1446.
- Mahmood, I. (2001) Interspecies scaling: is a priori knowledge of cytochrome P450 isozymes involved in drug metabolism helpful in prediction of clearance in humans from animal data? *Drug Metabolism and Drug Interaction*, **18**(2):135-147.
- Mahmood, I. (2001b) Interspecies scaling of maximum tolerated dose of anticancer drugs: relevance to starting dose for phase I clinical trials. *American Journal of Therapeutics*, **8**:109-116.
- Mahmood, I. (2002) Prediction of clearance in humans from in vitro human liver microsomes and allometric scaling. A comparative study of the two approaches. *Drug Metabolism and Drug Interaction*, **19**(1):49-64.
- Mahmood, I. & Balian, J.D. (1996a) Interspecies scaling: predicting pharmacokinetic parameters of antiepileptic drugs in humans from animals with special emphasis on clearance. *J. Pharm. Sci.*, **85**:411-414.
- Mahmood, I. & Balian, J.D. (1996b) Interspecies scaling: a comparative study for the prediction of clearance and volume using two or more than two species. *Life Sci.*, **59**:579-585.

- Mahmood, I. & Balian, J.D. (1996c) Interspecies scaling: predicting clearance of drugs in humans. Three different approaches. *Xenobiotica*, **26**:887-895.
- Mahmood, I. & Balian, J.D. (1999) The pharmacokinetic principles behind scaling from preclinical results to phase I protocols. *Clinical Pharmacokinetics*, **36**(1):1-11.
- Mahmood I. & Sahajwalla, C. (2002) Interspecies scaling of biliary secreted drugs. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **91**(8):1908-1914
- Maitho, T.E.; Lees, P. Taylor, J.B. (1986) Absorption and pharmacokinetics of phenylbutazone in Welsh Mountain ponies. *J. vet. Pharmacol. Therap.*, **9**:26-39.
- Maitho, T.E. (1991) Bioavailability study of phenylbutazone in cattle. *Zimbabwe Veterinary Journal*, **22**:75-84.
- Majoral, M.; Berge, C.; Casinos, A. y Jouffroy, F.K. (1997) Length of the vertebral column of primates: An allometric study. *Folia Primatologica*, **68**(2):57-76
- Mandell, B.F. (1999) General tolerability and use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Am. J. Med.*, **13**; 107(6A) :72S-76S.
- Martin, K.; Andersson, L.; Stgridsberg, M.; Wise, B. & Appelgre, L.E. (1984) Plasma concentration, mammary excretion and side-effects of phenylbutazone after repeated oral administration in healthy cows. *J. vet. Pharmacol. Therap.*, **7**:131-138.
- Martín-Jiménez, T. (1999) Extrapolating pharmacological data across species. *In vivo* and *in vitro* techniques. Pharmacokinetics Training Workshop. EAVPT/ECVPT, Toulouse.
- Martín-Jiménez, T.; Papich, M.G. & Riviere, J.E. (1998) Population pharmacokinetics of gentamicin in horses, *American Journal of Veterinary Research*, **59**(12):1589-1598.
- Martín-Jiménez, T. & Riviere, J.E. (1998) Population pharmacokinetics in veterinary medicine: Potential use for therapeutic monitoring and prediction of tissue residues. *J. vet. Pharmacol. Therap.*, **21**:167-189.
- Martín-Jiménez, T. & Riviere, J.E. (2001) Mixed effects of the disposition of gentamicin across domestic animal species. *J. vet. Pharmacol. Therap.*, **24**:321-332.
- Martín-Jiménez, T. & Papich, M.G. (2002) Prostaglandinas y antiinflamatorios no esteroideos, en *Farmacología y Terapéutica Veterinaria*, Botana, L.M.; Landoni, F. & Martín-Jiménez, T., (eds.) McGraw-Hill-Interamericana, Madrid, pp. 350-374.
- Martín-Jiménez, T. & Riviere, J.E. (2002) Mixed-effects modeling of the interspecies pharmacokinetic scaling of oxytetracycline. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **91**(2):331-341.
- Martindale, the complete drug referente (1999) 32nd edition. K. Parfitt (ed) Pharmaceutical Press, London.

- Martínez Lanao, J. (1996) Introducción. II Curso teórico-práctico de farmacocinética avanzada, Salamanca, 24-28 de junio.
- Masferrer, J.L.; Reddy, S.T.; Zweifel, B.S.; Seibert, K.; Needleman, P.; Gilbert, R.S. & Herschman, H.R. (1994) In vivo glucocorticoids regulate cyclooxygenase-2 but not cyclooxygenase-1 in peritoneal macrophages. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **270**:1340-1344.
- Matthews, N.S.; Taylor, T.S.; Hartsfield, S.M. & Williams, J.D. (1992) A comparison of injectable anaesthetic regimens in mammoth asses. *Equine Vet. J.* **11** (suppl.):37-40.
- Matthews, N.S.; Taylor, T.S.; Hartsfield, S.M.; Hayton, W.L. & Jones, D.H. (1994) Pharmacokinetics of ketamine in mules and mammoth asses premedicated with xylazine. *Equine Vet. J.* **26**:241-243.
- Matthews, N.S.; Peck, K.E.; Mealey, K.L.; Taylor, T.S. & Ray, A.C. (1997) Pharmacokinetics and pulmonary effects of guaifenesin in donkeys. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, **20**(6):442-446.
- Matthews, N.S.; Peck, K.E.; Taylor, T.S. & Mealey, K.L. (2001) Pharmacokinetics of phenylbutazone and its metabolite oxyphenbutazone in miniature donkeys. *American Journal of Veterinary Research*, **62** (5):673-675.
- Maylin, G.A. (1974) Disposition of phenylbutazone in the horse. *Proceedings of the 20th annual Meeting of the American Association of Equine Practitioners*, pp. 243-248.
- Mayós i Servet, I. (2002) Perfil cinético de la suxibuzona para su uso en la clínica de équidos. Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Barcelona.
- Mazué, G.; Richez, P. & Berthe, J. (1983) Pharmacology and comparative toxicology of non-steroidal anti-inflammatory agents, en Ruckebusch, Y.; Toutain, P.L. & Koritz, G.D. (Eds.) *Veterinary Pharmacology and Toxicology*. MTP Press, Boston, pp. 321-331.
- Meade, E.A.; Smith W.L. & De Witt, D.L. (1993) Differential inhibition of prostaglandin endoperoxide synthase (cyclooxygenase) isozymes by aspirin and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *J. Biol. Chem.*, **268**:6610-6641.
- Mealey, K.L.; Matthews, N.S.; Peck, K.E.; Ray, A.C. & Taylor, T.S. (1997) Comparative pharmacokinetics of phenylbutazone and its metabolite oxyphenbutazone in clinically normal horses and donkeys. *American Journal of Veterinary Research*, **58**:53-55.
- Meek, K. (1879) Oberflächenmessungen des menschlichen Körpers. *Z. Biol.*, **15**:425-428.
- Meot, F. & Bonnet, J.M. (1992) Physiopathologie de l'inflammation. *Rec. Med. Vet.*, **168**(8/9) :559-564.
- Mills, P.C.; Ng, J.C.; Skelton, K.V.; Seawright, A.A. & Auer, D.E. (1995) Phenylbutazone in racing Greyhounds: plasma and urinary residues 24 and

- 48 hours after a single intravenous administration. *Australian Veterinary Journal*, **72**(8):304-308.
- Mills, P.C.; Hrdlicka, J. & Auer, D.E. (1995) Disposition and urinary excretion of phenylbutazone in normal and febrile greyhounds. *Research in Veterinary Science*, **59**:261-266.
- Mills, P.C.; Ng, J.C. & Auer, D.E. (1996) The effect of inflammation on the disposition of phenylbutazone in Thoroughbred horses. *J. vet. Pharmacol. Therap.*, **19**:475-481.
- Mirochnick, M. (2000) Antiretroviral pharmacology in pregnant women and their newborns. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **918**:287-297.
- Mitchell, J.A. & Evans, T.W. (1998) Cyclooxygenase-2 as a therapeutic target. *Inflamm. Res.*, **47** (suppl.2):S88-S92.
- Mitsuhashi, Y.; Sugiyama, Y.; Ozawa, S.; Nitanaï, T.; Sasahara, K.; Nakamura, K.; Tanaka, M.; Nishimura, T.; Inaba, M. & Kobayashi, T. (1990) Prediction of ACNU plasma concentration-times profiles in humans by animal scale-up. *Cancer Chemoth. Pharm.*, **27**:20-26.
- Moncada, S.; Flower, R.J. & Vane, J.R. (1982) Prostaglandinas, prostaciclina y tromboxano A2, Las bases farmacológicas de la terapéutica, Goodman, Goodman & Gilman. Panamericana, Buenos Aires.
- Monro, A. & Mordenti, J. (1995) Expression of exposure in negative carcinogenicity studies: dose/body weight, dose/body surface area, or plasma concentrations? *Toxicol. Pathol.*, **23**(2):187-198.
- Mordenti, J. (1985a) Forecasting cephalosporin and monobactam antibiotic half-lives in humans from data collected in laboratory animals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **27**:887-891.
- Mordenti, J. (1985b) Pharmacokinetics scale-up: accurate prediction of human pharmacokinetic profiles from animal data. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **74**:1097-1099.
- Mordenti, J. (1986a) Dosage regimen design for pharmaceutical studies conducted in animals. *J. Pharm. Sci.*, **75**(9):852-857.
- Mordenti, J. (1986b) Man versus beast: pharmacokinetic scaling in mammals. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **75**:1028-1040.
- Mordenti, J. & Chappel, W. (1989) The use of interspecies scaling in toxicokinetics, en Toxicokinetics and new drug development. Yacob, A.; Skelly, J. & Batra, V. (eds.) pp. 42*-96. Pergamon, Nueva York.
- Mordenti, J.; Chen, S.A.; Moore, J.A.; Ferraiolo, B.L. & Green, J.D. (1991) Interspecies scaling of clearance and volume of distribution data for five therapeutic proteins. *Pharmaceut. Res.* **8**(11):1351-1359.
- Morosanu, N.; Cucos, L.; Burtan, I. & Radu-Turorache, G. (1972) Use of Tomanol in the treatment of surgical conditions in animals (cattle, horse, dog, cat). *Lucrari Stiintifice II Zootnie Medicina Veterinara*, 257-261.

- Morris, T.H. (1999) Dose estimation among species, en *Formulary for laboratory animals 2ª edición* (Hawk, C.T. & Leary, S.L.) Iowa State University Press/Ames, pp. 3-14.
- Moss, M.S. & Haywood, P.E. (1973) Persistence of phenylbutazone in horses producing acid urines. *Vet. Rec.*, **93**:124-125.
- Mundt, S. (1972) Dexametazon in dogs and cats. *Praktische Tierärzt.*, **53**(11):552-553.
- Murray, M. (1991) Microsomal cytochrome P450-dependent steroid metabolism in male sheep liver. Quantitative importance of 6 beta-hydroxylation and evidence for the involvement of a P450 from the IIA subfamily in the pathway. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, **38**:611-619.
- Nakano, S.; Sudo, H.; Nakagawa, K. & Nishioka, Y. (1979) Chronic toxicity test of suxibuzone with oral administration to rats. Taiho Pharmaceutical Internal Report, Japón.
- Nathan, C. (2002) Points of control in inflammation. *Nature*, **420**:846-852.
- Navarre, C.B.; Ravis, W.R.; Nagilla, R.; Simpkins, A.; Duran, S.H. & Pugh, D.G. (2001) Pharmacokinetics of phenylbutazone in llamas following single intravenous and oral doses. *J. vet. Pharmacol. Therap.*, **24**:227-231.
- Nielsen, C.H.; Østergaard, E.H. & Frey, H.H. (1969) Versuche zur Dosierung von Phenylbutazon beim Hund. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.*, **76**:378-381.
- Nolan, A.M. (2000) New perspectives on the pharmacology of inflammatory pain. Plenary session. 8th International Congress of the E.A.V.P.T. Jerusalén (Israel), 30 julio-3 agosto.
- Nijhout, H.F. & Emlen, D.J. (1998) Competition among body parts in the development and evolution of insect morphology. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, **95**(7):3685-3689
- Obach, R. & Doménech, J. (1998) Biodisponibilidad, en *Biofarmacia y Farmacocinética* (vol. II, Biofarmacia). Síntesis, Madrid.
- Obach, R.S.; Baxter, J.G.; Liston, T.E.; Silber, B.M.; Jones, C.; Macintyre, F.; Rance, D.J. & Wastall, P. (1997) The prediction of human pharmacokinetic parameters from preclinical and in vitro metabolism. *J. Pharmacol Exp. Ther.*, **283**:456-58.
- O'Brien, W.M. (1986) Adverse reactions to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *The American Journal of Medicine*, **80** (suppl. 4B): 70-80.
- Ohki, S.; Ogino, N.; Yamamoto, S. & Hayaishi, O. (1979). Prostaglandin hydroperoxidase, an integral part of prostaglandin endoperoxide synthetahse from bovine vesicular gland microsomes. *J. Biol. Chem.* **254**: 829-836.
- Olsen, S.C.; Coyne, C.P.; Lowe, B.S.; Pelletier, N.; Raub, E.M. & Erickson, H.H. (1992) Influence of cyclooxygenase inhibitors on furosemide-

- induced hemodynamic effects during exercise in horses. *Am. J. Vet. Res.*, **53**(9):1562-1567.
- O'Malley, I.; Crooks, J.; Duke, E. & Stevenson, I.H. (1971) Effect of age and sex on human drug metabolism, *British Medical Journal* **3**:607-609.
- Osório, J.C.S.; María, G.; Oliveira, N.M.; Osório, M.T.; Pouey, J.L.O. & Pimentel, M.A. (1999) Estudio de tres sistemas de producción de carne en corderos Polwarth. *Rev. Bras. de Agrociencia*, **5**(2):124-130.
- Oukessou, M. & Zine-Filali, R.A. (1992). A comparative study of phenylbutazone kinetics in the dromedary camel and sheep (abstr.), en Proceedings of the First International Conference on Camel Research, Dubai, pp. 420-421
- Oukessou, M.; Bouljihad, M.; Van Gool, F. & Alvinerie, M. (1996) Pharmacokinetics of ketoprofen in the donkey (*Equus asinus*). *J. Vet. Med. A*, **43**:423-426.
- Oukessou, M. & Alsouss, L. (1998) Pharmacokinetics of sulphonamides and trimethoprim in the donkey (*Equus asinus*). *J. Vet. Med. A*, **45**:191-198.
- Owens, S.M.; Hardwick, W.C. & Blackall, D. (1987) Pheicyclidine pharmacokinetic scaling among species. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **242**(1):96-101.
- Owens, J.G.; Kamerling, S.G.; Stanton, S.R. & Keowen, M.L. (1995) Effects of ketoprofen and phenylbutazone on chronic hoof pain and lameness in the horse. *Equine vet. J.*, **27**(4):296-300.
- Owens, J.G.; Kamerling, S.G.; Stanton, S.R.; Keowen, M.L. & Prescott-Mathews, J.S. (1996) Effects of pretreatment with ketoprofen and phenylbutazone on experimentally induced synovitis in horses. *A.J.V.R.*, **57**(6):866-874.
- Page, C.P.; Curtis, M.J.; Sutter, M.C.; Walker, M.J.A. & Hoffman, B.B. (1998) *Farmacología integrada*. Harcourt Brace, Madrid.
- Paine, A.J. (1995) Heterogeneity of cytochrome p450 and its toxicological significance. *Human and Experimental Toxicology* **14**:1-7.
- Pairet, M. y Van Ryn, J. (1998) Experimental models used to investigate the differential inhibition of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 by non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Inflamm. Res.*, **47**:93-101.
- Palacios Moreno, J.M. & García Almansa, A. (1972). El crecimiento y sus defectos. Sandoz, Dpto. Farmacéutico, Barcelona.
- Patrono, C. (1994) Aspirin as an antiplatelet drug. *N. Engl. J. Med.* **330**:1287-1294.
- Paxton, J.W. (1995) The allometric approach for interspecies scaling of pharmacokinetics and toxicity of anti-cancer drugs. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, **22**(11):851-854

- Pedraz, J.L.; Calvo, B.; Hernández, R. & Domínguez-Gil, A. (1990) Extrapolación farmacocinética dentre diferentes especies animales y el hombre. *Industria Farmacéutica*. Noviembre-diciembre, 65-79.
- Pelikan, E.J. (1959) Dose metameters for neuromuscular blockin agents. *Pharmacologist*, **1**:73.
- Perel, J.M.; McMillan Snell, M.; Chen, W. & Dayton, P.G. (1964) A study of structure-activity relationships in regard to species difference in the phneylbutazone series. *Biochemical Pharmacology*, **13**:1305-1317.
- Pérez Ruiz. O.A.; Cartaya Padrón, L.; Valencia Fernández, V.; Sanjurjo Gámez, V. & Ilisástigui Ortueta, T. (1998) Biosíntesis de los productos del ácido araquidónico y su repercusión sobre la inflamación. *Rev. Cubana Estomatol.*, **35**(2):56-61.
- Perez Barbería, F.J. & Gordon, I.J. (1998) The influence of sexual dimorphism in body size and mouth morphology on diet selection and sexual segregation in cervids. *Acta Veterinaria Hungarica*, **46**(3):357-367
- Perrey, K., Jonen, H. G.; Kahl, G.F. & Jänchen, E. (1976) Elimination and distribution of phenylbutazone in rats during the course of adjuvant-induced arthritis. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **197**:470-477.
- Piperno, E.; Ellis, D.J.; Getty, S.M. & Brody, T.M. (1968) Plasma and urine levels of phneylbutazone in the horse. *J.Am. Vet. Med. Assoc.* **153**:195-198.
- Pires, C.C.; Silva, L.F.; Farinatti, L.H.E.; Peixoto, L.A.; Fulber, M.E. & Cunha, M.A. (2000) Growth of lambs slaughtered at different weights. 2. Body constituents. *Ciencia Rural*, **30**(5):869-873.
- Plumb, D.C. (1999) Veterinary drug handbook (3rd edition) Iowa University Press, Ames.
- Pond, S.M.; Birkett, D.J. & Wade, D.N. (1977) Mechanisms of inhibition of tolbutamide metabolism: phenylbutazone, oxyphenbutazone, sulphenazole. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **22**:573-579.
- Preiss, H. (1967) Therapie Versuche bei der Krämpfigkeit des Rindes. *Tierärztliche Umschau*, **22**(1):21-25.
- Prescott, L. (2000) Therapeutic Misadventure with Paracetamol: Fact or Fiction? *American Journal of Therapeutics*; **7**(2); 99-114.
- Pulver, R. (1950) Über Irgapyrin ein neues Antirheumaticum und Analgeticum. *Schweizerische Medizinische Wochenschrift*, **80**(12):308-310.
- Puyt, J.D.; Gogny, M. y Joseph-Enriquez, B. (1992) Les antiinflammatoires en médecine vétérinaire. Presentation énérale et pharmacocinétique. *Recl. Méd. Vét.*, **168** (8/9): 577-590
- Rainsford, K.D.; Schweitzer, A & Brune, K. (1981) Autoradiographic and biochemical observations on the distribution of non-steroid anti-inflammatory drugs. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, **250**(2):180-194.
- Rainsford, K.D. & Velo, G.P. (1983) Side effects of anti-inflammatory/analgesic drugs. Raven Press, NY.

- Rainsford, K.D. (1984a) Mechanisms of gastrointestinal ulceration by nonsteroidal antiinflammatory/analgesic drugs, en *Advances in Inflammation Research*. (Rainsford, K.D.& Velo, G.P. (eds.), Raven Press, NY.
- Rainsford, K.D. (1984b) Side-effects of anti.inflammatory/analgesic drugs: renal, hepatic and other systems, *Trends in Pharmacological Sciences*, **May**:205-208.
- Rajaian, H.; Symods, H.W. & Bowmer, C.J. (1997) Drug binding on chicken albumin: a comparison to human albumin. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, **20**(6): 421-426.
- Rall, D.P. & North, W.C. (1953) Consideration of dose-weight relationships. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **83**:825-827.
- Rameaux & Sarrus, (1830) En: *Fisiología Animal Comparada* (1980) Hill, A.V. Reverté, Barcelona.
- Rang, H.P. y cols. (2000) *Farmacología* (4ª ed.) Harcourt, Madrid.
- Rasmussen, F. (1966) Studies on the mammary excretion and absorption of drugs. C.F. Mortensen, Copenhagen
- Reichard, M. (1998) A morphological comparison of riverine and oxbow bitterling populations with respect to allometric growth. *Folia zoologica*, **47**(1): 65-73.
- Rensch, B. (1954) *Neuere Probleme der Abstammungslehre*. Enke, Stuttgart.
- Ricklefs, R.E. (1998) *Invitación a la ecología. La economía de la naturaleza* (4ª edición). Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires.
- Riond, J.L. & Riviere, J.E. (1989) Doxycycline binding to plasma albumin of several species. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, **12**:253-260.
- Riond, J.L. & Riviere, J.E. (1990) Allometric analysis of doxycycline pharmacokinetic parameters. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, **13**:404-407.
- Ritschel, W.A. (1976) *Handbook of basic pharmacokinetics*. Hamilton, Illinois.
- Ritschel, W.A. & Banerjee, P.S. (1986) Physiological pharmacokinetic models: principles, applications, limitations and outlook, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology* **10**:603-614.
- Riviere, J.E. (1997) Basic principles and techniques of pharmacokinetic modeling. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* **28**(1):3-19.
- Riviere, J.E.; Martín-Jiménez, T.; Sundlof, S.F. & Craigmill, A.L. (1997) Interspecies allometric analysis of the comparative pharmacokinetics of 44 drugs across veterinary and laboratory animal species, *J. vet. Pharmacol. Therap.* **20**:453-463.
- Riviere, J.E. (1999) *Comparative Pharmacokinetics. Principles, Techniques and Applications*. Iowa State University Press. Ames, Iowa.

- Rose, R.J.; Kohnke, J.R. & Baggot, J.D. (1982) Bioavailability of phenylbutazone preparations in the horse. *Equine Vet. J.* **14**:234-237.
- Rosenthale, M.E., Kassarich, J. & Schneider, F. Jr. (1966) Effect of anti-inflammatory agents on acute experimental synovitis in dogs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **122**:693-696.
- Roser, E.R.; Martínez, L.; Segarra, R. & Salazar, R. (1977) Estudio farmacocinético de la suxibuzona en el conejo. *Ciencia & Industria Farmacéutica*, **9**(10):260-267.
- Rowland, M. (1985) Physiological pharmacokinetic models and interanimal species scaling. *Pharmacol. Therapeut.*, **29**:49-68.
- Ruckebusch, Y. & Toutain, P.L. (1983) Non-steroidal anti-inflammatory agents: species difference in pharmacodynamics. *Veterinary Research Communications*, **7**:359-368.
- Rubner, M. (1883) Über den Einfluss der Körpergröße auf Stoff- und Kraftwechsel. *Z. Biol. Munich.*, **19**:535-562.
- Sacher, G. (1959) Relation of lifespan to brain weight and body weight in mammals, en Wolstenholme, G.E.W. & O'Connor, M. (eds.) CIBA Foundation colloquia on aging. Churchill, Londres.
- Sáez Ayala, P. (1996) Estudio alométrico de la farmacocinética de la enrofloxacina. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza.
- Sample, B.E. & Arenal, C.A. (1999) Allometric models for interspecies comparison of wildlife toxicity data. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **62**(6):653-663.
- San Andrés Larrea, M.I. (1997) Alometría y terapéutica veterinaria. Discurso de recepción, Real Academia de Ciencias Veterinarias.
- San Andrés Larrea, M.I.; Rodríguez Fernández, C.; Ros Rodríguez, J.M.; Encinas Cerezo, T.; de Vicente Ruiz, M.L. & Ballesteros Vicente, C. (2003) Particularidades anatomofisiológicas de animales domésticos y salvajes con repercusión en la farmacocinética y/o farmacodinamia, en Medicamentos de Uso Animal, (módulo I). Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos.
- Sandholm, M.; Kaartinen, L. & Pyorala, S. (1990) Bovine mastitis, why does antibiotic therapy not always work? An overview. *J.vet. Pharmacol. Therap.*, **13**:248-260.
- Sawada, Y.; Hanano, M.; Sugiyama, Y. & Harashima, H. (1984a) Prediction of lactam antibiotics in human from pharmacokinetic parameters in animals. *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **24**:241-261.
- Sawada, Y.; Hanano, M.; Sugiyama, Y. & Harashima, H. (1984b) Prediction of the volumen of distributin of basic drugs in humans based on data from animals. *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **12**:587-596.

- Sawada, Y.; Hanano, M.; Sugiyama, Y. & Iga, T. (1985) Prediction of the disposition of nine weak acidic and six weak basic drugs in humans from pharmacokinetic parameters in rats. *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **13**:477-492.
- Scherkel, R. & Frey, H.H. (1987) Pharmacokinetics of ibuprofen in the dog. *J. vet. Pharmacol. Therap.*, **10**:261-265.
- Schmidt-Nielsen, K. (1980) Energy metabolism, body size, and problems of scaling. *Federation Proceedings*, **29**:1524-1532.
- Schmidt-Nielsen, K. (1984) Scaling: Why is animal size so important? Cambridge University Press. Cambridge.
- Sedgwick, C.J. & Borkowski, R. (1996) Allometric scaling: Extrapolating treatment regimens for reptiles, en *Reptile Medicine & Surgery*, Mader (), pp. 235-241
- Semrad, S.D.; Sams, R.A.; Harris, O.N. & Ashcraft, S.M. (1993a) Effects of concurrent administration of phenylbutazone and flunixin meglumine on pharmacokinetic variables and in vitro generation of thromboxane B₂ in mares. *Am. J. Vet. Res.*, **54**(11):1901-1905.
- Semrad, S.D.; McClure, J.T.; Sams, R.A. & Kaminski, L.M. (1993b) Pharmacokinetics and effects of repeated administration of phenylbutazone in neonatal calves. *Am. J. Vet. Res.*, **54**(11):1906-1912.
- Serrano, J.S y Serrano, M.I. (1993) Fármacos antitérmicos-analgésicos y antiinflamatorios-gotosos, en *Farmacología* (Velasco, A., y cols., editores). MacGraw-Hill-Interamericana, Madrid.
- Shargel, L. & Yu, A.B.C. (1992) Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics. 3rd. Ed. Appleton & Lange, Norwalk, CT.
- Sharma, S.; Prasal, A.; Anand, K.S. (1999) Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in free management of pain and inflammation: a basis for drug selection. *Am. J. Ther.* **6**(1):3-11.
- Sheiner, L.B. (1984) Analysis of pharmacokinetic data using parametric models 1: regression models. *J. Pharmacokin. Biopharm.* **12**:93-118.
- Sheiner, L.B. & Tozer, T.N. (1979) Clinical pharmacokinetics: The use of plasma concentrations of drugs, en *Clinical Pharmacology* (Melmon, K.L. & Morelli, H.F., eds.) pp. 71-109. MacMillan, N. York.
- Shibasaki, J.; Konishi, R.; Kitasaki, T.; Koizumi, T. (1979) Relationship between drug concentration and drug response in man: pharmacokinetic considerations. *Proceedings of the 5th International Congress in Pharmacology*, **3**: 34-55.
- Shpigel, N.Y.; Winkler, M.; Saran, A. & Ziv, G. (1996) The antiinflammatory drugs phenylbutazone and dypirone in the treatment of field cases of bovine mastitis. *J. Vet. Med A*, **43**:331-336.

- Simmons, D.; Xie, W.; Evett, G.; Merrill, J.; Robertson, D.L. & Bradshaw, W.S. (1993) Drug inhibition and cellular regulation of prostaglandin G/H synthase isoenzyme 2. *J. Lipid. Med.* **6**: 113-117.
- Sirosis, J. & Richards, J.S. (1992) Purification and characterization of a novel, distinct isoform of prostaglandin endoperoxide synthase induced by human chorionic gonadotropin in granulosa cells of rat preovulatory follicles. *J. Biol. Chem.*, **26**:6382-6388.
- Smith, A.L.; Lodge, J.R. & Link, R.P. (1979) *In vitro* effects of phenylbutazone on equine chromosomes, *Vet. Rec.*, **104**:195-196.
- Smith, P.B.W.; Caldwell, J.; Smith, R.L.; Horner, M.W. & Moss, M.S. (1985) The disposition of phenylbutazone in the horse. *Biochem. Pharmacol.*, **34**:459-460.
- Smith, P.B.W.; Caldwell, J.; Smith, R.L.; Horner, M.W. & Moss, M.S. (1987) The bioavailability of phenylbutazone in the horse. *Xenobiotica*, **17**(4):435-445.
- Smith, W.L. & Marnett, L.J. (1991) Prostaglandin endoperoxide synthase: Structure and catalysis. *Biochim. Biophys. Acta* **1083**: 1-17.
- Smith, W.L. (1992). Prostanoid biosynthesis and mechanisms of action. *Am. J. Physiol.* **263**: F181-F191.
- Snow, D.H.; Bogan, J.A.; Douglas, T.A. & Thompson, H. (1979) Phenylbutazone toxicity in ponies. *Vet. Rec.*, 105:26
- Snow, D.H.; Baxter, P. & Whiting, B. (1981) The pharmacokinetics of meclofenamic acid in the horse. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, **4**:147-156.
- Snow, D.H. (1987) Phenylbutazone kinetics, en Robinson, N.W. Current therapy in equine medicine 2, W.B. Saunders Co. Philadelphia, pp.118-119.
- Soma, L.R.; Gallis, D.E.; Davis, W.L. Cochran, T.A. & Woodward, C. (1983) Phenylbutazone kinetics and metabolite concentrations in the horse after five days of administration. *Am. J. Vet. Res.*, **44**(11):2104-2109.
- Soma, L.R.; Sams, R.; Duer, W.; Tobin, T.; Woodward, C. & MacDonald, J. (1985) Plasma and serum concentrations of phenylbutazone and oxyphenbutazone in racing Thoroughbreds 24 hours after treatment with various dosage regimens. *Am. J. Vet. Res.*, **46**(4):932-938.
- Stahl, W.R. (1965) Organ weights in primates and other mammals. *Science*, **150**:1039-1042.
- Stevenson, A.C.; Hastie, P.S. Archer, R.K. (1972) Chromosome findings in horse treated with phenylbutazone. *Equine. Vet. J.*, **4**:214-216.
- Stevenson, A.J.; Weber, M.P.; Todi, F.; Mendonca, M.; Fenwick, J.D.; Kwong, E.; Young, L.; Leavitt, R.; Nespolo, R.; Beaumier, P.; Timmings, S. & Kacew, S. (1990) The influence of furosemide on plasma and urinary excretion of drugs in standardbred horses. *J. vet. Pharmacol. Therap.*, **13**:93-104.

- Storset, A. (1990) Adverse effects of phenylbutazone on dogs. *Norsk Veterinærtidsskrift*, **102**(1):42-43
- Sullivan, M. & Snow, D.H. (1982) Factors affecting absorption of non-steroidal antiinflammatory agents in the horse. *Vet. Rec.*, **110**:554-558.
- Sumano, H. & Ocampo, L. (1997) *Farmacología veterinaria* (2ª ed.). MacGraw-Hill Interamericana, México D.F.
- Tandy, J. & Thorpe, E. (1967) A fatal syndrome in the dog following administration of phenylbutazone. *Vet. Rec.* **81**:398-399.
- Thompson, D. (1917) *On growth and form*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Tobin, T. (1979) Pharmacology Review: The nonsteroidal anti-inflammatory drugs. I. Phenylbutazone. *J. Eq. Med. Surg.*, **6**:253-259.
- Tobin, T. (1981) *Drugs and the performance horse*. C. C. Thomas, Springfield, Illinois.
- Tobin, T.; Blake, J.W. & Valentine, R. (1977) Drug interaction in the horse: effects of chloramphenicol, quinidine, and oxyphenbutazone on phenylbutazone metabolism. *American Journal of Veterinary Research*, **38**:123-127.
- Tobin, T.; Chay, S.; Kamerling, S.; Woods, W.E.; Weckman, T.J.; Blake, J.W. & Lees, P. (1986) Phenylbutazone in the horse: a review. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* **9**:1-25
- Toutain, P.L.; Alvinerie, M. & Ruckebusch, Y. (1980a) Pharmacocinetique et residus de la phenylbutazone chez la vache. *Annales Recherche Veterinaria*, **11**:391-397.
- Toutain, P.L.; Alvinerie, M. & Ruckebusch, Y. (1980b) Residue profile of phenylbutazone in the rabbit. A comparative evaluation by tissue kinetics prior and post mortem. *J. Vet. Pharmacol. Therap.*, **3**:255-259.
- Toutain, P.L.; Autefage, A.; Legrand, C. & Alvinerie, M. (1994) Plasma concentrations and therapeutic efficacy of phenylbutazone and flunixin meglumine in the horse: pharmacokinetic/pharmacodynamic modelling. *J. Vet. Pharmacol. Therap.*, **17**:459-469.
- Toutain, P.L. (1999) Application of clearance concept. Pharmacokinetics Training Workshop. EAVPT/ECVPT, Toulouse.
- Tracey, K. (2002) The inflammatory reflex. *Nature*, **420**:853-859.
- Triggs, E.J.; Nation, R.L.; Long, A. & Ashley, J.J. (1975) Pharmacokinetics in the elderly. *European Journal of Clinical Pharmacology* **8**:55-62.
- Tsunekawa, Y.; Hasegawa, T.; Nadai, M.; Takagi, K. & Nabeshima, T. (1992) Interspecies differences and scaling for the pharmacokinetics of xanthine derivatives. *J. Pharm. Pharmacol.*, **44**:594-599.
- Tully, T.N. Jr. (1997) Formulary, en *Avian Medicine and Surgery*, Altman, R.B.; Clubb, S.L.; Dorrestein, G.M. & Quesenberry, K. (eds.), Saunders Co., Philadelphia, pp. 671-688

- Van Peer, A.; Belpaire, F. & Bogaert, M. (1978) Pharmacokinetics of drugs in rabbits with experimental acute renal failure. *Pharmacology*, **17**(6):307-314.
- Vane, J.R. (1971) Inhibition of prostaglandin synthesis as mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nature*, **231**:232-235.
- Vane, J.R. (1973) Prostaglandins and aspirin-like drugs, en Maxwell, R.A. & Acheson, G.H. Cellular mechanisms, vol. 5. Proceedings of the 5th International Congress in Pharmacology, Basilea, pp.353-378.
- Vane, J.R. (1994) Towards a better aspirin. *Nature* **367**:215-216.
- Vane J.R. & Ferreira, S.H. (1978). Inflammation. Springer-Verlag, Berlin.
- Vane J.R. & Botting, R.M. (1998). The mode of action of antiinflammatory drugs. *Postgrad. Med. J.*, **66** (suppl.4):S2-S17.
- Vega, F. (1995) Riñón. Timo. Prostaglandinas, en Fisiología Veterinaria (García Sacristán, A. y cols., editores) MacGraw-Hill-Interamericana, Madrid, pp.795-810.
- Verbeeck, R.K.; Blackburn, J.L. & Loewen, G.R. (1983) Clinical Pharmacokinetics of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Clinical Pharmacokinetics* **8**:297-331.
- Veterindustria. (2000) Guía de productos sanitarios. Pulso ediciones, Barcelona.
- Vocci, F. & Farber, T. (1988) Extrapolation of animal toxicity data to man. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, **8**(4):389-398.
- Vogel, G. & Angerman, H. (1974) Atlas de Biología. Omega, Barcelona.
- Voit, E. (1901) Über die Grösse des Energie-bedarfs der Tiere in Hungerzustände. *Z. Biol.*, **41**:113-154.
- Volner, Z.; Nouws, J.F.M.; Kozjek, F.; Van Ginneken, C.A.M. & Primožic, S. (1990) Age-dependent pharmacokinetics of phenylbutazone in calves. *The Veterinary Quarterly*, **12**(2):98-102.
- Von Bahr, C.; Alexanderson, B.; Azarnoff, D.L.; Sjoqvist, F. & Orrenius, S. (1970) A comparative study of drug metabolism in the isolated perfused liver and *in vivo* rats. *European J. Pharmacol.*, **9**:99-105.
- Von Rechenberg, H.K. (1966) Phenylbutazone (Butazolidin) E. Arnold Ltd., London.
- Walker, J.S. (1995) NSAID: an update on their analgesic effects. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, **22**:855-860.
- Wallace, M.E.; Zawie, D.A. & Garvey, M.S. (1990) Gastric ulceration in the dog secondary to the use of nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Journal of the American Animal Hospital Association* **26**:467-472
- Wallace, J.L. (1994) The 1994 Merck Fross Award. Mechanisms of nonsteroidal antiinflammatory drugs (NSAID) induced gastrointestinal damage. Potential for development of gastrointestinal tract safe NSAID's. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **72**(12):1493-1498.

- Wallace, J.L. (1999) Selective **COX-2** inhibitors: Is the water becoming muddy?
Trends in Pharmacological Sciences, **20**(1): 4-6.
- Wallis, W.J. & Simkin, P.A. (1983) Antirheumatic drug concentration in human synovial fluid and synovial tissue. *Clin. Pharmacokinet.*, **8**:496-522.
- Warner, T.; Giuliano, F.; Vojnovic, I.; Bukasa, A.; Mitchell, J.; Vane, J.R. (1999) Nonsteroid drug selectivities for cyclooxygenase-1 rather than cyclo-oxygenase-2 are associated with human gastrointestinal toxicity: A full in vitro analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**:7563-7568.
- Wasfi, I.A.; Hadi, A.H.; Zorob, O.; Osman, M.A. & Boni, N.S. (1997) Pharmacokinetics of phenylbutazone in camels. *American Journal of Veterinary Research*, **58**:636-640.
- Watson, A.D.J.; Wilson, J.T.; Turner, D.M. & Culvenor, J.A. (1980) Phenylbutazone-induced blood dyscrasias suspected in three dogs. *The Veterinary Record*, **107**:239-241.
- Watson, A.D.J.; Nicholson, A.; Church, D.B. & Pearson, M.R.B. (1996) Use of anti-inflammatory and analgesic drugs in dogs and cats. *Aust. Vet. J.* **74** (3):203-210.
- Weber, W. & Harnisch, L. (1994) Prediction of the pharmacokinetics in humans for a new compound based on animal data using NONMEM. *Clinical trials and meta-analysis*, **29**(4):261-262.
- Welch, R.M.; Harrison, Y.E. & Burns, J.J. (1967) Implications of enzyme induction in drug toxicity studies. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **10**(2):340-351.
- Welfare, R.E.; Mealey, K.L.; Matthews, N.S. & Taylor, T.S. (1996) Pharmacokinetics of gentamicin in the donkeys. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, **19**(2):167-169.
- Weiss, M., Szigoleit, W. & Förster, W. (1977) Dependence of pharmacokinetic parameter on the body weight. *Int. J. Clin. Pharmacol.*, **15**:572-575.
- West, L.J. & Pierce, C.M. (1962) Lysergic acid diethylamide: its effects on a male Asiatic elephant. *Science*, **138**:1100-1103.
- Whitehouse, M.W. & Beck, F.J. (1973) Impaired drug metabolism in rats with adjuvant-induced arthritis: A brief review. *Drug. Metab. Disp.* **1**:251-255.
- Whitehouse, M.W. & Rainsford, K.D. (1976) Side-effects of anti-inflammatory drugs: are they essential or can they be circumvented?. *Agents & Actions.*, suppl. 3:171-187.
- Whittem, T.; Firth, E.C.; Hodge, H. & Turner, K. (1996) Pharmacokinetic interactions between repeated dose phenylbutazone and gentamicin in the horse. *J. vet. Pharmacol. Therap.*, **19**:454-459.

- Wilcke, J.R.; Crisman, M.V.; Sams, R.A. & Gerken, D.F. (1993) Pharmacokinetics of phenylbutazone in neonatal foals. *Am. J. Vet. Res.*, **54**(12):2064-2067.
- Wilhelmi, G. (1949) Über die pharmakologischen Eigenschaften von Irgapyrin, einem neuen Präparat aus der Pyrazolreihe. *Schweizerische Medizinische Wochenschrift*, **79**(25):577-582.
- Wilhelmi, G. (1950) Über die antiphlogistische Wirkung von Pyrazolen, speziell von Irgapyrin, bei peroraler und parenteraler Verabreichung. *Schweizerische Medizinische Wochenschrift*, **80**(35):936-942.
- Williams, R.J.; Smith, J.A.; Boudinot, F.D. & Knight, A.P. (1990a) Pharmacokinetics of phenylbutazone given intravenously or orally in mature Holstein bulls. *Am. J. Vet. Res.*, **51**(3):367-370.
- Williams, R.J.; Smith, J.A.; Boudinot, F.D. & Knight, A.P. (1990b) Pharmacokinetics of phenylbutazone in mature Holstein bulls: Steady-state kinetics after multiple oral dosing. *Am. J. Vet. Res.*, **51**(3):371-375.
- Williams, P.J. & Ette, E.I. (2000) The role of population pharmacokinetics in drug development in light of the Food and Drug Administration's Guidance for Industry: population pharmacokinetics. *Clin. Pharmacokinet.*, **39**(6):385-395.
- Willoughby, D.A., Moore, A.R. & Colville-Nash, P.R. (2000). Cox-1, Cox-2 and Cox-3 and the future treatment of chronic inflammatory disease. *Lancet* **355**:646-648.
- Xie, W.; Robertson, D.L. & Simmons, D.L. (1992) Mithogen-inducible prostaglandin G/H synthase: a new target for nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Drug. Dev. Res.* **25**:249-265.
- Yates, F.E. & Kugler, P.N. (1986) Similarity principles and intrinsic geometries: contrasting approaches to interspecies scaling. *J. Pharmaceut. Sci.*, **75**:1019-1027.
- Yoshida, R.; Fukunaga, Y.; Miyoshi, O.; Inubushi, M.; Morinaga, H. & Morita, K. (1980) Studies of subacute toxicity of suxibuzone on oral administration to dogs. *Pharmacometric*. **19** (4) :581-601.
- Young, D.B.; Ewing, P.J.; Burrows, G.E.; Lessley, B.A.; Clarke, C.R. & Shawley, R.V. (1994) Effects of phenylbutazone on thiamylal disposition and anaesthesia in ponies. *J. vet. Pharmacol. Therap.*, **17**:389-393.
- Zech, R. Scherkl, A. Hashem, A. & Frey, H.-H. (1993) Plasma and tissue kinetics of phenylbutazone and naproxen in dogs. *Arch. Int. Pharmacodyn.* **325**:113-128.
- Zertuche, J.M.; Brown, M.P.; Gronwall, R. & Merritt, K. (1992) Effect of probenecid on the pharmacokinetics of flunixin meglumine and phenylbutazone in healthy mares. *Am. J. Vet. Res.*, **53**(3):372-374.
- Zhou, S.; Kestell, P. & Paxton, J.W. (2002) Predicting pharmacokinetic and drug interactions in patients from in vitro and in vivo models: the

experience with 5,6-dimethylxanthenone-4-acetic acid (DMXAA) an anti-cancer drug eliminated mainly by conjugation. *Drug. Metab. Rev.*, **34**(4):751-790.

Zweers-Zeilmaker, W.H.; Horbach, G.J. & Witkamp, R.F. (1997) Differential inhibitory effects of phenytoin, diclofenac, phenylbutazone and a series of sulfonamides on hepatic cytochrome P450 activity in vitro, and correlation with some molecular descriptors in the dwarf goat (*Caprus hircus aegagrus*). *Xenobiotica*, **27**(8):769-780.

ANEXO

ANEXO

RECTAS DE CALIBRACIÓN CROMATOGRÁFICA

CC FBZ	ABC P.I.	ABC FBZ	ABC _{pi} /ABC _{FBZ}	Recta calibración
0,5	5,378	2,1248	0,3951	$CC_{FBZ} = 0,0869 + 0,1260 (ABC_{pi}/ABC_{FBZ});$ $(r^2 = 0,9582)$ Recuperabilidad _{FBZ} = 83,14%
	6,2558	2,386	0,3814	
	4,8374	0,7195	0,1487	
	3,6342	1,1734	0,3229	
1,0	7,4059	0,6082	0,0821	
	7,5112	0,5887	0,0784	
	7,867	0,6461	0,0821	
	6,4101	0,5367	0,0837	
5,0	6,7901	4,2867	0,6313	
	7,1856	4,6283	0,6441	
	7,0714	4,7301	0,6689	
	5,6384	3,5837	0,6356	
10,0	3,8664	5,9369	1,5355	
	3,8058	5,8502	1,5372	
	3,9436	4,9178	1,2470	
	4,539	5,5864	1,2308	

TABLA A.1: Datos de área bajo la curva cromatográfica frente a concentración de fenilbutazona en plasma (mg/l) utilizados para el cálculo de la recta de calibración y la recuperabilidad plasmática en caballos.

CC FBZ	ABC P.I.	ABC FBZ	ABC _{pi} / ABC _{FBZ}	Recta calibración
0,25	3,2714	0,1342	0,0410	$CC_{FBZ} = -0,0102 + 0,1224 (ABC_{pi}/ABC_{FBZ})$ $(r^2 = 0,9925)$ $\text{Recuperabilidad}_{FBZ} = 88,80 \%$
	3,3591	0,1243	0,0370	
	4,8596	0,0808	0,0166	
	4,2168	0,04705	0,0111	
	3,5426	0,149	0,0420	
	3,6042	0,1418	0,0393	
0,5	4,5533	0,1194	0,0262	
	4,9452	0,1812	0,0366	
2,5	4,6816	0,8687	0,1855	
	4,4535	0,9134	0,2050	
	4,7388	1,6617	0,3506	
	4,8643	1,5796	0,3247	
5,0	5,2676	3,037	0,5765	
	5,1071	2,8267	0,5534	
	5,2119	3,691	0,7081	
	5,1115	3,5467	0,6938	
10,0	4,2932	5,0969	1,1872	
	4,3851	4,9688	1,1331	
	4,9492	6,2567	1,2641	
	4,8338	5,9901	1,2392	

TABLA A.2: Datos de área bajo la curva cromatográfica frente a concentración de fenilbutazona en plasma (mg/l) utilizados para el cálculo de la recta de calibración y la recuperabilidad plasmática en burros.

CC FBZ	ABC P.I.	ABC FBZ	ABC _{pi} / ABC _{FBZ}	Recta calibración
1	0,707	0,213	0,3012	$CC_{FBZ} = 0,5222 + 0,0201$ (ABC_{pi}/ABC_{FBZ}) $(r^2 = 0,8235)$ Recuperabilidad _{FBZ} = 102,27 %
	0,603	0,298	0,4941	
	1,116	0,441	0,3951	
	0,78	0,536	0,6871	
	0,887	0,542	0,6110	
	0,867	0,503	0,5801	
2	1,033	0,548	0,5304	
	1,046	0,821	0,7848	
	1,906	1,6	0,8394	
	1,784	1,514	0,8486	
	1,539	0,64	0,4158	
	1,421	0,718	0,5052	
5	4,187	1,772	0,4232	
	4,295	1,655	0,3853	
	3,441	2,492	0,7242	
	3,567	2,552	0,7154	
	4,356	2,029	0,4657	
	4,366	2,072	0,4745	
10	5,099	1,701	0,3335	
	5,327	1,748	0,3281	
	6,714	6,91	1,0291	
	6,799	7,062	1,0386	
	6,426	5,694	0,8860	
	6,617	5,987	0,9047	

TABLA A.3: Datos de área bajo la curva cromatográfica frente a concentración de fenilbutazona en plasma (mg/l) utilizados para el cálculo de la recta de calibración y la recuperabilidad plasmática en ovejas.

CC FBZ	ABC P.I.	ABC FBZ	ABC _{pi} / ABC _{FBZ}	Recta calibración
0,25	4,0194	0,2794	0,0695	$CC_{FBZ} = 0,1934 +$ $0,1170$ (ABC_{pi}/ABC_{FBZ}) $(r^2 = 0,9196)$ $Recuperabilidad_{FBZ}$ $= 94,70 \%$
	4,0783	0,2565	0,0628	
0,5	0,5667	0,2563	0,4522	
	0,483	0,2156	0,4463	
	4,771	1,9993	0,4190	
	4,9297	2,068	0,4194	
2,5	3,5202	1,4271	0,4054	
	3,6514	1,5088	0,4132	
5,0	5,0353	3,4574	0,6866	
	5,5028	3,6633	0,6657	
	4,8723	2,9683	0,6092	
	5,5038	3,3385	0,6065	
10,0	4,2394	5,189	1,2239	
	4,0674	7,6651	1,8845	
	4,923	6,6425	1,3492	
	5,1928	6,6475	1,2801	

TABLA A.4: Datos de área bajo la curva cromatográfica frente a concentración de fenilbutazona en plasma (mg/l) utilizados para el cálculo de la recta de calibración y la recuperación plasmática en perros.

CC FBZ	ABC P.I.	ABC FBZ	ABC _{pi} / ABC _{FBZ}	Recta calibración
0,25	4,4464	0,1078	0,0242	$CC_{FBZ} = 0,0375 + 0,1383$ $(ABC_{pi}/ABC_{FBZ});$ $(r^2 = 0,9869)$ $Recuperabilidad_{FBZ} = 95,91 \%$
	4,7671	0,1145	0,0240	
	5,1174	0,2313	0,0451	
	5,1615	0,1743	0,0337	
2,5	5,0128	1,6128	0,3217	
	5,2665	1,7224	0,3270	
5,0	5,2504	4,1324	0,7870	
	5,2339	4,2686	0,8155	
	3,8803	3,338	0,8602	
	3,8726	3,6502	0,9425	
10,0	5,7446	7,5879	1,3208	
	5,5279	7,4734	1,3519	
	4,9998	6,958	1,3916	
	5,1635	7,2552	1,4050	

TABLA A.5: Datos de área bajo la curva cromatográfica frente a concentración de fenilbutazona en plasma (mg/l) utilizados para el cálculo de la recta de calibración y la recuperabilidad plasmática en conejos.

CC FBZ	ABC P.I.	ABC FBZ	ABC _{pi} / ABC _{FBZ}	Recta calibración
0,5	1,6142	0,317	0,1964	$CC_{FBZ} = -0,6253 + 0,9616 (ABC_{pi}/ABC_{FBZ})$ $(r^2 = 0.9661)$ Recuperabilidad _{FBZ} = 90,96 %
	1,5705	0,2962	0,1886	
	0,3569	0,3678	0,7832	
	0,3518	0,3399	0,8849	
	0,336	0,222	0,6607	
2,0	1,5686	1,2285	0,7832	
	1,6952	1,5	0,8849	
	1,122	1,1817	1,0532	
	1,1488	1,1786	1,0259	
	1,703	1,919	1,1268	
	1,717	1,402	0,8165	
5,0	1,3074	4,533	3,4672	
	1,3891	4,1331	2,9754	
	1,3096	4,9863	3,8075	
	1,3877	4,59	3,3076	
10,0	1,301	11,597	8,9139	
	1,368	15,756	11,5175	
	1,2309	12,237	9,9415	
	1,3664	10,431	7,6339	
	1,3356	9,9404	7,4426	
	1,0946	11,3076	10,3303	

TABLA A.6: Datos de área bajo la curva cromatográfica frente a concentración de fenilbutazona en plasma (mg/l) utilizados para el cálculo de la recta de calibración y la recuperabilidad plasmática en ratas.

CC FBZ	ABC P.I.	ABC FBZ	ABC _{pi} / ABC _{FBZ}	Recta calibración
0,25	5,2985	0,1036	0,0195	$CC_{FBZ} = -$ $0,0514 + 0,1334$ (ABC_{pi}/ABC_{FBZ}) $(r^2 = 0,9823)$ Recuperabilidad = 103,77 %
	5,499	0,1734	0,0315	
	5,8884	0,0654	0,0111	
	5,7183	0,02872	0,0050	
2,5	5,3863	1,3781	0,2558	
	5,9037	1,1907	0,2016	
	5,2277	1,1088	0,2121	
	5,372	1,1424	0,2126	
5,0	5,3337	3,2817	0,6152	
	5,1932	3,2579	0,6273	
	5,241	3,4405	0,6564	
	5,2549	3,4644	0,6592	
10,0	4,4812	6,471	1,4440	
	4,304	6,2696	1,4566	
	5,0133	5,6034	1,1177	
	5,0608	5,6693	1,1202	

TABLA A.7: Datos de área bajo la curva cromatográfica frente a concentración de fenilbutazona en plasma (mg/l) utilizados para el cálculo de la recta de calibración y la recuperabilidad plasmática en ratones.

CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS TRAS ADMINISTRACIÓN ENDOVENOSA DE FBZ

TIEMPO (min)	CABALLO-1	CABALLO-2	CABALLO-3	CABALLO-4	MEDIA ± SEM
2,5	28,45	26,70	25,62	20,72	25,37 ± 3,31
5	22,26	21,67	12,63	17,55	18,53 ± 4,45
10	9,86	20,24	17,67	15,73	15,87 ± 4,41
15	16,75	11,85	18,13	12,38	14,78 ± 3,13
20	16,17	14,31	7,84	7,83	11,54 ± 4,34
30	7,18	3,32	14,95	10,27	8,93 ± 4,91
45	4,27	10,92	10,65	5,36	7,80 ± 3,47
60	3,14	4,15	8,09	8,06	5,86 ± 2,59
90	5,22	6,50	9,47	5,80	6,75 ± 1,88
120	8,36	9,32	8,34	5,42	7,86 ± 1,68
180	2,96	5,88	7,59	5,33	5,44 ± 1,91
240	2,87	6,67	4,03	4,54	4,53 ± 1,59
300	3,52	5,91	3,42	4,23	4,27 ± 1,15
360	2,33	4,12	4,26	1,33	3,01 ± 1,42
480	1,76	2,88	1,99	1,81	2,11 ± 0,52
600	2,06	2,83	4,70	1,62	2,80 ± 1,36
1440	1,91	1,48	1,77	1,28	1,61 ± 0,28

*TABLA A.8:
Datos de*

concentración plasmática (mg/l) de fenilbutazona tras administración de una dosis única (7,5 mg/kg) del fármaco por vía endovenosa en caballos (n=4).

TIEMPO (min)	BURRO-1	BURRO-2	BURRO-3	BURRO-4	BURRO-5	MEDIA ± SEM
5	44,47	40,95	63,99	93,49	61,18	60,82 ± 20,85
10	26,72	30,62	48,24	56,34	39,15	40,21 ± 12,24
15	24,13	20,28		30,84	28,44	25,92 ± 4,67
20	19,46	22,68	31,49	29,48	24,59	25,54 ± 4,92
30	9,51	14,36	34,30	20,59	21,02	19,96 ± 9,32
45	7,68	8,57	25,26	15,40	12,95	13,97 ± 7,05
60	3,95	5,98	18,90	10,78	9,43	9,81 ± 5,76
90	1,64	2,58	12,11	6,90	5,90	5,83 ± 4,14
120	1,50	1,48	9,39	4,85	3,59	4,16 ± 3,25
180	0,35	0,60	4,60	1,70	1,11	1,67 ± 1,71
240	0,74	0,33	2,71	0,76	0,76	1,06 ± 0,93
300	0,32	0,30	1,51	0,41	0,42	0,59 ± 0,51
360	0,48	0,38	1,25	0,39	0,35	0,57 ± 0,38
480	0,20	0,28	0,66	0,21	0,32	0,33 ± 0,18
600	0,16	0,42	0,31	0,25	0,14	0,25 ± 0,11
1440	0,14	0,75	0,18	0,25	0,18	0,30 ± 0,25

TABLA A.9: Datos de concentración plasmática (mg/l) de fenilbutazona tras administración de una dosis única (5 mg/kg) del fármaco por vía endovenosa en burros (n=5).

TIEMPO (min)	OVEJA-1	OVEJA-2	OVEJA-3	OVEJA-4	OVEJA-5	MEDIA ± SEM
5	-	192,60	176,23	163,83	136,27	177,55 ± 14,43
10	150,20	155,87	166,56	139,20	169,72	156,31 ± 12,40
15	135,59	149,02	144,65	122,04	162,82	142,82 ± 15,21
20	128,15	144,56	124,18	128,96	132,08	131,59 ± 7,78
30	123,72	144,89	127,92	102,70	95,25	118,90 ± 20,01
45	97,84	108,75	106,14	91,81	117,28	104,36 ± 9,87
60	99,53	105,45	109,85	123,15	127,88	113,17 ± 11,96
120	88,40	92,79	100,15	94,09	99,02	94,89 ± 4,79
180	109,15	83,15	103,42	73,96	85,22	90,98 ± 14,74
240	84,72	73,07	96,18	78,56	85,59	83,62 ± 8,65
300	80,87	69,78	71,45	75,73	80,85	75,74 ± 5,16
360	57,59	57,09	85,12	71,98	89,75	72,31 ± 15,14
480	67,27	52,58	79,46	55,45	82,18	67,39 ± 13,48
600	60,28	51,11	73,11	66,06	69,49	64,01 ± 8,62
1440	26,79	19,83	69,15	36,94	46,01	39,74 ± 19,21

*TABLA A.10:
Datos de
concentración
plasmática (mg/l) de
fenilbutazona tras
administración de
una dosis única (5
mg/kg) del fármaco
por vía endovenosa en
ovejas (n=5).*

TIEMPO (min)	PERRO-1	PERRO-2	PERRO-3	PERRO-4	MEDIA ± SEM
5	54,16	48,21	72,00	73,54	61,98 ± 12,71
10	36,61	42,11		59,23	45,99 ± 11,79
15	33,86	32,00	43,27	48,36	39,38 ± 7,76
20	28,62	33,61	40,87	52,44	38,89 ± 10,34
30	28,47	30,57	31,03	45,19	33,82 ± 7,67
45	28,76	29,32	31,25	38,34	31,92 ± 4,41
60	23,74	23,38	26,62	34,63	27,10 ± 5,23
90	16,85	22,44	15,86	27,79	20,74 ± 5,53
120	17,36	15,66	14,93	23,83	17,95 ± 4,06
180	10,34	12,29	7,60	11,55	10,45 ± 2,06
240	8,56	9,27	5,47	10,89	8,55 ± 2,27
300	3,77	6,07	2,71	8,11	5,17 ± 2,42
360	0,63	2,64	1,88	5,03	2,55 ± 1,85

TABLA A.11: Datos de concentración plasmática (mg/l) de fenilbutazona tras administración de una dosis única (5 mg/kg) del fármaco por vía endovenosa en perros (n=4).

TIEMPO (min)	CONEJO-1	CONEJO-2	CONEJO-3	CONEJO-4	MEDIA ± SEM
5	49,78	80,18	68,62	80,78	69,84 ± 14,50
10	42,04		52,96		47,50 ± 7,72
15	6,84	48,85	31,16	65,88	38,18 ± 25,25
20	6,89	44,65	40,26	52,25	36,01 ± 20,04
30	15,8	25,92	49,91	48,93	35,14 ± 17,00
45	13,08	34,8	48,43	48,85	36,29 ± 16,79
60	36,77		32,18	39,45	36,13 ± 3,68
90	26,47	36,82	34,86	36,51	33,67 ± 4,87
120	36,85	22,23	16,03	20,22	23,83 ± 9,05
180	1,58	18,34	17,99	20,46	14,59 ± 8,74
240	0,3	9,82	16,6	17,19	10,98 ± 7,86
300	0,61		12,49	12,63	8,58 ± 6,90
360	9,13	6,91	7,41	9,18	8,16 ± 1,17
480	1,18	4,91	2,24	4,02	3,09 ± 1,69
600	0,19	2,98	1,36	3,53	2,02 ± 1,53
1440	0,18	0,51	0,25	0,51	0,36 ± 0,17

TABLA A.12: Datos de concentración plasmática (mg/l) de fenilbutazona tras administración de una dosis única (5 mg/kg) del fármaco por vía endovenosa en conejos (n=4).

TIEMPO (min)	SERIE-1	SERIE-2	SERIE-3	SERIE-4	MEDIA ± SEM
5	18,55	18,26	13,48	14,39	16,17 ± 2,60
10	19,54	28,71	9,35	18,33	18,98 ± 7,91
15	18,94	19,67	9,75	19,33	16,92 ± 4,79
20	12,66	20,06	12,26	13,87	14,71 ± 3,63
30	21,38	21,16	14,85	21,93	19,83 ± 3,33
45	17,20	11,26	25,50	9,24	15,80 ± 7,29
60	16,74	25,56	12,08	16,03	17,60 ± 5,68
90	18,82	22,39	8,04	11,43	15,17 ± 6,59
120	15,50	16,32	14,86	15,24	15,56 ± 0,73
180	13,76	15,22	5,01	11,02	11,33 ± 5,52
240	17,14	19,25	9,25	7,78	13,35 ± 5,68
300	8,59	11,9	6,64	8,54	9,04 ± 2,65
360	5,98	8,74	5,21		6,64 ± 1,85
420		10,22	4,41	7,69	7,31 ± 4,10
480	5,06	7,84	3,73		5,54 ± 2,09
600	4,94	2,12	4,52	4,06	3,86 ± 1,52
1440		2,53	1,66	1,15	1,78 ± 0,69

TABLA A.13: Datos de concentración plasmática (mg/l) de fenilbutazona tras administración de una dosis única (5 mg/kg) del fármaco por vía endovenosa en ratas (k=4).

TIEMPO (min)	CONCENTRACIÓN FENILBUTAZONA
5	14,70
10	12,15
15	9,98
20	5,54
30	3,11
45	2,09
60	1,47
90	1,38
120	1,02
180	0,84
240	0,29
300	0,20
360	0,22
480	0,19
600	0,26
1440	0,20

TABLA A.14: Datos de concentración plasmática (mg/l) de fenilbutazona tras administración de una dosis única (5 mg/kg) del fármaco por vía endovenosa en ratones.

PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE FENILBUTAZONA TRAS ADMINISTRACIÓN ENDOVENOSA

	CABALLO-1	CABALLO-2	CABALLO-3	CABALLO-4	MEDIA ± SEM
α (min⁻¹)x10⁻²	5,78	10,53	4,84	6,21	6,84 ± 2,53
t_{1/2}α (min)	11,99	6,58	14,30	11,14	11,00 ± 3,24
β (min⁻¹)x10⁻³	0,72	1,23	1,43	1,47	1,21 ± 0,34
t_{1/2}β (min)	959,03	561,74	481,61	471,16	618,39 ± 230,67
Vd_{ss} (ml/kg)	1674,12	932,15	754,28	1214,22	1143,69 ± 401,13
Cl (ml/h/kg)	1,27	1,22	1,09	1,82	1,35 ± 0,32
AUC	3903,00	5099,00	6029,00	3597,00	4657,00 ± 1120,99
MRT (min)	1313,03	759,99	687,64	664,12	856,20 ± 307,28

TABLA A.15: Parámetros farmacocinéticos de fenilbutazona tras administración de una dosis única (7,5 mg/kg) del fármaco por vía endovenosa en caballos (n=4).

	BURRO-1	BURRO-2	BURRO-3	BURRO-4	BURRO-5	MEDIA ± SEM
α (min⁻¹)x10⁻²	6,23	4,67	3,11	11,10	6,79	6,38 ± 3,00
t_{½α} (min)	11,11	14,83	22,21	6,21	10,20	12,91 ± 6,03
β (min⁻¹)x10⁻³	2,34	1,61	3,52	3,67	3,24	2,88 ± 0,88
t_{½β} (min)	295,98	427,79	196,65	188,46	213,35	264,45 ± 100,82
Vd_{ss} (ml/kg)	797,75	1264,69	194,08	307,85	362,32	585,34 ± 443,41
Cl (ml/h/kg)	3,96	2,64	1,31	1,98	2,44	2,47 ± 0,98
AUC	1238,42	1771,77	3800,72	2504,40	2033,15	2269,69 ± 970,38
MRT (min)	201,22	477,93	148,04	154,78	148,17	226,03 ± 142,56

os de fenilbutazona tras administración de una dosis única (5 mg/kg) del fármaco por vía endovenosa en burros (n=5).

TAB
LA
A.16:
Parám
etros
farmac
ocinéticos

	OVEJA-1	OVEJA-2	OVEJA-3	OVEJA-4	OVEJA-5	MEDIA \pm SEM
α (min ⁻¹)x10 ⁻²	6,61	3,30	5,13	5,29	8,76	5,82 \pm 2,02
t _{1/2α} (min)	10,46	20,96	13,50	13,07	7,91	13,18 \pm 4,89
β (min ⁻¹)x10 ⁻³	1,00	1,12	0,31	0,73	0,61	0,75 \pm 0,32
t _{1/2β} (min)	696,32	618,15	2253,48	945,33	1127,46	1128,15 \pm 660,75
Vd _{ss} (ml/kg)	43,86	45,75	50,98	48,99	45,60	47,04 \pm 2,88
Cl (ml/h/kg)	0,04	0,05	0,01	0,03	0,02	0,03 \pm 0,02
AUC	83991	73923	113842	89658	101633	92609 \pm 15528
MRT (min)	951,86	833,77	3253,24	1333,85	1528,27	1580,20 \pm 976,53

TABLA A.17:
 Parámetros farmacocinéticos de fenilbutazona tras administración de una dosis única (5 mg/kg) del fármaco por vía endovenosa en ovejas (n=5).

	PERRO-1	PERRO-2	PERRO-3	PERRO-4	MEDIA \pm SEM
α (min ⁻¹)x10 ⁻²	30,60	11,20	17,00	47,50	26,58 \pm 16,15
t _{1/2α} (min)	2,26	6,17	4,06	1,45	3,49 \pm 2,10
β (min ⁻¹)x10 ⁻³	9,35	6,66	8,95	8,65	8,40 \pm 1,20
t _{1/2β} (min)	74,06	103,99	77,36	80,02	83,86 \pm 13,64
Vd _{ss} (ml/kg)	126,46	135,28	114,16	92,34	117,06 \pm 18,62
Cl (ml/h/kg)	1,03	0,87	1,04	0,66	0,90 \pm 0,18
AUC	4689,62	5206,02	4597,47	7445,00	5484,5 \pm 1334,1
MRT (min)	122,64	154,89	109,23	138,27	131,26 \pm 19,72

TABLA A.18:
 Parámetros farmacocinéticos de fenilbutazona tras administración de una dosis única (5 mg/kg) del fármaco por vía endovenosa en perros (n=4).

	CONEJO-1	CONEJO-2	CONEJO-3	CONEJO-4	MEDIA ± SEM
α (min⁻¹)x10⁻²	20,70	9,44	12,05	3,97	11,54 ± 6,97
t_{1/2α} (min)	3,33	7,33	5,74	17,42	8,46 ± 6,20
β (min⁻¹)x10⁻³	3,67	3,13	3,91	3,36	3,52 ± 0,34
t_{1/2β} (min)	188,62	220,92	176,92	205,79	198,06 ± 19,31
Vd_{ss} (ml/kg)	159,02	132,98	102,05	107,89	125,49 ± 26,07
Cl (ml/h/kg)	0,92	0,49	0,55	0,42	0,60 ± 0,22
AUC	5373	9898	8362	11761	8849 ± 2702
MRT (min)	171,35	266,12	182,53	255,66	218,92 ± 48,87

única (5 mg/kg) del fármaco por vía endovenosa en conejos (n=4).

*TABLA
A.19:
Parámetros
farmacocinético
s
de
fenilbutazona
tras
administración
de una dosis*

	SERIE-1	SERIE-2	SERIE-3	SERIE-4	MEDIA ± SEM
α (min⁻¹)x10⁻²	0,29	0,24	4,32	1,26	1,53 ± 1,92
t_{1/2α} (min)	236,17	284,66	160,29	54,85	183,99 ± 100,16
β (min⁻¹)x10⁻³	0,796	1,490	0,989	1,590	1,216 ± 0,384
t_{1/2β} (min)	870,53	463,73	700,56	434,98	617,45 ± 206,46
Vd_{ss} (ml/kg)	241,09	260,33	393,42	237,96	283,20 ± 74,14
Cl (ml/h/kg)	0,62	0,47	0,64	0,57	0,58 ± 0,08
AUC	6309	9558	7004	8071	7736 ± 1415
MRT (min)	387,67	548,96	612,97	412,72	490,58 ± 108,07

TABLA
A.20:

Parámetros farmacocinéticos de fenilbutazona tras administración de una dosis única (5 mg/kg) del fármaco por vía endovenosa en ratas (k=4).

	VALORES DE LOS PARÁMETROS
α (min ⁻¹)x10 ⁻²	6,15
t _{1/2α} (min)	11,26
β (min ⁻¹)x10 ⁻³	1,30
t _{1/2β} (min)	532,26
Vd _{ss} (ml/kg)	3431,61
Cl (ml/h/kg)	6,33
AUC	706,82
MRT (min)	541,60

TABLA A.21:
Parámetros farmacocinéticos de fenilbutazona tras

administración de una dosis única (5 mg/kg) del fármaco por vía endovenosa en ratas (k=4).

PRECISIÓN DEL ESCALAJE ALOMÉTRICO PARA LOS PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS

	t_{1/2β} (h)		
	Valor experimental	Valor estimado	Valor bibliografía
RATONES	8,87	6,68	1,5-3,0
RATAS	10,29	6,50	2,78-3,99
CONEJOS	3,30	6,30	1,8-3,0
PERROS	1,40	6,17	2,8-6,7
OS			
OVEJAS	18,81	6,07	17,92
BURROS	4,40	5,95	0,63
CABALLOS	10,31	5,90	3,5-7,1

T
A
B
L
A
A
.
2
2
:
V
a
l
o
r
e
s
m
e

datos obtenidos experimentalmente y estimados alométricamente en este trabajo para la semivida de eliminación de la FBZ en las distintas especies animales. Rango de valores encontrados en trabajos publicados previamente.

	Vd_{ss} (l/kg) x peso (kg)		
	Valor experimental	Valor estimado	Valor bibliografía
RATONES	0,09	0,02	-
RATAS	0,06	0,11	0,209
CONEJOS	0,34	1,02	0,183*
PERROS	1,56	3,98	0,00017
OVEJAS	2,50	13,25	0,098
BURROS	138,7	53,76	0,147-0,545
CABALLOS	498,8	92,27	0,14-0,25

TABLA A.23: Valores medios obtenidos experimentalmente y estimados alométricamente en este trabajo para el volumen de distribución en el estado estacionario (corregido por el peso) de la FBZ en las distintas especies animales. Rango de valores encontrados en trabajos publicados previamente.

	Cl (ml/h/kg) x peso (kg)		
	Valor experimental	Valor estimado	Valor bibliografía
RATONES	0,17	0,23	-
RATAS	0,14	0,19	44,6-52,1
CONEJOS	1,71	1,66	-
PERROS	11,74	8,76	18,4
OVEJAS	1,50	1,48	4,56
BURROS	590,73	259,52	170,3-214,2
CABALLOS	590,63	259,48	18-30

T
A
B
L
A
.
2
4
:
V
a
l

ores medios obtenidos experimentalmente y estimados alométricamente en este trabajo para el aclaramiento (corregido por el peso) de la FBZ en las distintas especies animales. Rango de valores encontrados en trabajos publicados previamente.

TRANSFORMACIONES EN TIEMPO INVARIABLE

	PESO CORPORAL (kg)	MRL (años)
CABALLOS	437,5 ± 58,6	38,7
BURROS	245,0 ± 38,8	31,6
OVEJAS	50,5 ± 4,9	18,3
PERROS	13,67 ± 1,18	19,7
CONEJOS	2,77 ± 0,29	8,01
RATAS	0,241 ± 0,007	4,68
RATONES	0,027 ± 0,002	2,67

TABLA A.25: Peso corporal (kg) de los animales utilizados en este estudio y Esperanza Media de Vida descrita en la bibliografía (Baggot, 2001).

TIEMPO CRONOLÓGICO (min)	TRANSFORMACIÓN EN TIEMPO EQUIVALENTE (Tiempo/peso ^{-0,0128})(min/kg ^{-0,0128})						
	CABALLOS	BURROS	OVEJAS	PERROS	CONEJOS	RATAS	RATONES
2,5	2,70						
5	5,40	5,36	5,26	5,17	5,07	4,91	4,77
10	10,81	10,73	10,51	10,33	10,13	9,82	9,55
15	16,21	16,09	15,77	15,50	15,20	14,73	14,32
20	21,62	21,45	21,03	20,67	20,27	19,64	19,10
30	32,43	32,18	31,54	31,00	30,40	29,46	28,64
45	48,64	48,27	47,31	46,50	45,61	44,19	42,97
60	64,86	64,36	63,08	62,01	60,81	58,92	57,29
90	97,29	96,54		93,01	91,21	88,38	85,93
120	129,71	128,71	126,16	124,01	121,62	117,83	114,58
180	194,57	193,07	189,24	186,02	182,43	176,75	171,87
240	259,43	257,43	252,32	248,02	243,24	235,67	229,16
300	324,28	321,79	315,40	310,03	304,05	294,59	286,45
360	389,14	386,14	378,48	372,03	364,86	353,50	343,74
420						412,42	
480	518,85	514,86	504,64		486,48	471,34	458,31
600	648,57	643,57	630,80		608,10	589,17	572,89
1440	1556,56	1544,58	1513,93		1459,43	1414,01	1374,94

TABLA A.26: Transformación del tiempo cronológico en tiempo equivalente.

TIEMPO CRONOLÓGICO (min)	TRANSFORMACIÓN EN APOLISICRONES (Tiempo/peso ^{0,0297})(min/kg ^{0,0297})						
	CABALLOS	BURROS	OVEJAS	PERROS	CONEJOS	RATAS	RATONES
2,5	2,08						
5	4,17	4,24	4,44	4,62	4,85	5,22	5,57
10	8,33	8,48	8,89	9,25	9,70	10,44	11,14
15	12,50	12,72	13,33	13,87	14,55	15,65	16,72
20	16,66	16,96	17,78	18,49	19,40	20,87	22,29
30	25,00	25,44	26,67	27,74	29,10	31,31	33,43
45	37,50	38,15	40,00	41,60	43,65	46,96	50,15
60	49,99	50,87	53,34	55,47	58,19	62,62	66,87
90	74,99	76,31		83,21	87,29	93,93	100,30
120	99,99	101,74	106,68	110,95	116,39	125,23	133,73
180	149,98	152,62	160,02	166,42	174,58	187,85	200,60
240	199,98	203,49	213,36	221,89	232,78	250,47	267,47
300	249,97	254,36	266,70	277,36	290,97	313,08	334,33
360	299,97	305,23	320,04	332,84	349,16	375,70	401,20
420						438,32	
480	399,96	406,97	426,72		465,55	500,93	534,93
600	499,94	508,72	533,40		581,94	626,17	668,67
1440	1199,87	1220,92	1280,16		1396,65	1502,80	1604,80

TABLA A.27: Transformación del tiempo cronológico en apolisicrones.

TIEMPO CRONOLÓGICO (min)	TRANSFORMACIÓN EN KALINOCRONES (Tiempo/peso ^{0,1353})(min/kg ^{0,1353})						
	CABALLOS	BURROS	OVEJAS	PERROS	CONEJOS	RATAS	RATONES
2,5	1,09						
5	2,19	2,37	2,93	3,50	4,35	6,07	8,17
10	4,37	4,73	5,87	7,01	8,71	12,14	16,34
15	6,56	7,10	8,80	10,51	13,06	18,20	24,51
20	8,75	9,46	11,73	14,01	17,41	24,27	32,69
30	13,12	14,20	17,60	21,02	26,12	36,41	49,03
45	19,68	21,30	26,40	31,53	39,18	54,61	73,54
60	26,24	28,39	35,20	42,04	52,24	72,81	98,06
90	39,36	42,59		63,06	78,35	109,22	147,09
120	52,48	56,79	70,39	84,08	104,47	145,62	196,12
180	78,72	85,18	105,59	126,13	156,71	218,43	294,18
240	104,96	113,58	140,79	168,17	208,95	291,24	392,23
300	131,20	141,97	175,98	210,21	261,18	364,05	490,29
360	157,45	170,36	211,18	252,25	313,42	436,87	588,35
420						509,68	
480	209,93	227,15	281,57		417,89	582,49	784,47
600	262,41	283,94	351,97		522,36	728,11	980,59
1440	629,78	681,45	844,72		1253,68	1747,46	2353,41

TABLA A.28: Transformación del tiempo cronológico en kalinocrones.

TIEMPO CRONOLÓGICO (min)	TRANSFORMACIÓN EN DIENETICRONES (Tiempo/MLP peso ^{0,0297})(min/años kg ^{0,0297})						
	CABALLOS	BURROS	OVEJAS	PERROS	CONEJOS	RATAS	RATONES
2,5	0,05						
5	0,11	0,13	0,24	0,23	0,61	1,11	2,08
10	0,22	0,27	0,49	0,47	1,21	2,23	4,17
15	0,32	0,40	0,73	0,70	1,82	3,34	6,25
20	0,43	0,54	0,97	0,94	2,42	4,46	8,34
30	0,65	0,81	1,46	1,41	3,63	6,69	12,51
45	0,97	1,21	2,19	2,11	5,45	10,03	18,76
60	1,29	1,61	2,92	2,82	7,27	13,37	25,02
90	1,94	2,42		4,23	10,90	20,06	37,52
120	2,59	3,23	5,84	5,64	14,53	26,75	50,03
180	3,88	4,84	8,75	8,45	21,80	40,12	75,05
240	5,18	6,45	11,67	11,27	29,07	53,50	100,07
300	6,47	8,06	14,59	14,09	36,34	66,87	125,08
360	7,77	9,68	17,51	16,91	43,60	80,24	150,10
420						93,62	
480	10,35	12,90	23,35		58,14	106,99	200,13
600	12,94	16,13	29,18		72,67	133,74	250,17
1440	31,06	38,70	70,04		174,42	320,97	600,40

TABLA A.29: Transformación del tiempo cronológico en dieneticones.

TIEMPO CRONOLÓGICO (min)	TRANSFORMACIÓN EN SINDESICRONES (Tiempo/(peso ^{-0,9073} ·peso cerebral ^{1,0169}))						
	CABALLOS	BURROS	OVEJAS	PERROS	CONEJOS	RATAS	RATONES
2,5	0,01						
5	0,01	0,01	0,02	0,03	0,02	0,03	0,04
10	0,03	0,03	0,03	0,07	0,04	0,06	0,08
15	0,04	0,04	0,05	0,10	0,05	0,09	0,12
20	0,05	0,05	0,06	0,13	0,07	0,12	0,15
30	0,08	0,08	0,09	0,20	0,11	0,18	0,23
45	0,12	0,12	0,14	0,30	0,16	0,28	0,35
60	0,15	0,16	0,18	0,40	0,22	0,37	0,46
90	0,23	0,24		0,60	0,33	0,55	0,70
120	0,31	0,32	0,36	0,80	0,44	0,74	0,93
180	0,46	0,48	0,54	1,20	0,66	1,11	1,39
240	0,62	0,64	0,72	1,61	0,88	1,48	1,86
300	0,77	0,80	0,91	2,01	1,10	1,84	2,32
360	0,93	0,96	1,09	2,41	1,32	2,21	2,78
420						2,58	
480	1,24	1,28	1,45		1,76	2,95	3,71
600	1,55	1,61	1,81		2,20	3,69	4,64
1440	3,71	3,85	4,35		5,27	8,85	11,13

TABLA A.30: Transformación del tiempo cronológico en sindesicrones..

