

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE
MEXICO



MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCION
Y DE LA SALUD ANIMAL

IDENTIFICACION Y EFECTO DEL SULFATO DE ATROPINA INYECTADO
EN LA ARTICULACION RADIO-CARPAL EN CABALLOS
BIOMECANICAMENTE Y RADIOGRAFICAMENTE SANOS.

PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

LUZ GABRIELA LOPEZ NAVARRO

TUTOR: MVZ MSc ALEJANDRO RODRIGUEZ MONTERDE
COMITÉ TUTORAL: MVZ PhD RENE ROSILES MARTINEZ
DVM PhD GORDON W. BRUMBAUGH.

MEXICO, D.F.

2006.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Dedico esta tesis a.....

La UNAM que me ha formado y que le debo todo lo que ahora soy y por que en ella encontré a todas esas incontables personas que además de su amistad me han brindado todos sus conocimientos,

Mi madre, que ha sido el pilar de roca que sostiene mi vida,

Dr. Alejandro Rodríguez Monterde, por ser siempre un visionario y un guerrero invencible, por la idea de esta tesis..... y por todo el apoyo..... “siempre”, mil gracias.

A mis hermanas..... Tere y Vania que aunque no somos de sangre siempre seremos familia.

Agradecimientos,

A la UNAM y al posgrado de la FMVZ por darme la oportunidad de seguirme superando y por haber creído en mi.

Al departamento de Medicina, Zootecnia y Cirugía para Equinos de la FMVZ, por todo el apoyo brindado para la realización de este proyecto, en especial al Dr. Alejandro Rodríguez Monterde.

Al laboratorio de Toxicología de la FMVZ por ayudarme a lograr este propósito..... Gracias Janitzio, las palabras sobran.

A Lilia Gutiérrez por su ayuda y su paciencia..... gracias.

A DGEP, para la realización de mi estancia en la Universidad de California en Davis, en especial a la Dra. Cristina Escalante por impulsar mi superación académica, profesional y personal, pero sobre todo gracias, mil gracias por tu amistad..... gracias por creer en mi una vez mas.....

Al CONACyT y a DGEP por su apoyo para la realización de este proyecto.

A los Laboratorios PISA Agropecuaria, por su apoyo con el sulfato de atropina, ya que fue la base para la realización de este proyecto, en especial al Dr. Miguel Ángel Zamora, gracias.

De manera muy especial quiero agradecer al Dr. Rene Rosales Martínez por su tiempo, su paciencia, su optimismo, por creer en mí, por la confianza, por el apoyo, pero sobre todo gracias por su AMISTAD.

Al Dr. Alejandro Rodríguez Monterde por TODO..... Ya que no alcanzan las palabras para nombrarlo "todo", pero gracias por la AMISTAD incondicional y por no dejarme vencer.

Al Dr. Bouda por su apoyo y su guía para realizar este trabajo, mil gracias.

A todas esas personas, que ya son parte fundamental de mi vida Lety, Susi, Raúl, Enrique N, José Luis, Dolores, Gina, Karina, Bigos, Yaz, Eli, Erika M, Lau...

A mi gallinero del alma..... por ponerme el ejemplo a seguir.

CONTENIDO.

	Página
Dedicatoria	i
Agradecimientos	ii
Resumen	iii
Abstract	iv
Índice	v
I. Introducción	1
II. Revisión de la literatura.	2
1. Antecedentes	2
2. Fármacos parasimpaticolíticos.	3
2.2. Estructura química y farmacocinética de la atropina.	3
2.3. Farmacodinamia	5
3. Morfofisiología de las cavidades sinoviales.	8
3.1. Función y estructura de la cápsula articular y de la membrana sinovial.	8
3.2. Características y Función de las fibras nerviosas de la sinovia.	10
3.3. Líquido sinovial.	10
3.4. Proceso inflamatorio en cavidades sinoviales.	14
4. Justificación científica	15
5. 5. Objetivos.	16
6. Hipótesis.	17
III. Material y Métodos.	17
3.1 Fase de campo.	17
3.2 Fase de laboratorio	20
3.2.1. Detección y cuantificación del sulfato de atropina	20
3.2.2. Condiciones del análisis.	21
3.2.3. Procesamiento de las muestras para la extracción de la atropina.	22
3.2.4. Desarrollo	22
3.3 Análisis Estadístico	23
3.3.1. Análisis Farmacocinético.	23
IV. Resultados	24
V. Discusión y Conclusiones	29
VI. Literatura citada.	33
Figuras	38
Cuadros	60
Anexo 1	74
Anexo 2	76

Resumen.

Identificación y efecto del sulfato de atropina inyectado en la articulación radio-carpal en caballos biomecánicamente y radiográficamente sanos.

MVZ. Gabriela López Navarro, MVZ MSc. Alejandro Rodríguez Monterde,
MVZ PhD. Rene Rosiles Martínez, DVM PhD. Gordon W. Brumbaugh.

Para el tratamiento de la sinovitis se ha utilizado empíricamente en la práctica clínica en caballos el sulfato de atropina, al disminuir la efusión de líquido sinovial tanto en articulaciones, vainas de tendones y bursas, sin conocimiento del efecto que tiene en el líquido articular. El objetivo de este estudio es utilizar el sulfato de atropina a una concentración de (1mg/ml), en seis caballos sanos a dos dosis (1mg y 3mg) intra-articularmente y como testigo en la articulación opuesta agua inyectable, que es el vehículo comercial del sulfato de atropina, para evaluar cambios en el pH, celularidad, viscosidad, proteína y calidad del coagulo de la mucina en el liquido articular antes y después de la aplicación del sulfato de atropina en la articulación tratada y en la articulación testigo, donde se encontró evidencia estadística con una ($P < 0.05$) que en las articulaciones tratadas a dosis de 3 mg la viscosidad del liquido articular además de elevarse se mantuvo por encima de los valores promedio de las otras articulaciones y la calidad del coagulo de mucina siempre fue muy buena (grado 1), mientras que en las tratadas con agua inyectable y a dosis de 1 mg. no se encontraron diferencias significativas. La identificación del compuesto en el liquido articular se realizo mediante el método de Cromatografía de líquidos de alta resolución y los resultados obtenidos se procesaron en el programa PKAnalyst, utilizando el modelo de un solo compartimiento, donde la vida media de eliminación en las articulaciones tratadas con 1 mg de sulfato de atropina fue 4.07 $\mu\text{g/ml/hr}$ y de 7.5 $\mu\text{g/ml/hr}$ en las tratadas con 3 mg. con tiempo de residencia en la articulación de 4 horas, a una concentración mínima detectable por el cromatógrafo de 5 ng/ml. Al comparar los dos tratamientos se observo que a dosis de 3 mg. i.a. de sulfato de atropina la vida media de eliminación es mayor que a dosis de 1 mg. i.a. pero el tiempo de permanencia dentro de la articulación es el mismo en los dos tratamientos, sin niveles detectables de atropina en plasma con las dos dosis utilizadas por lo que no produjo efectos adversos.

Palabras clave; sulfato de atropina, intra-articular, caballos.

Abstract.

Identification and effect of atropine sulfate injected into the radio-carpal joint of biomechanically and radiographically healthy horses.

MVZ. Gabriela López Navarro, MVZ MSc. Alejandro Rodríguez Monterde, MVZ PhD. Rene Rosiles Martínez, DVM PhD. Gordon W. Brumbaugh.

Atropine sulfate has been used empirically, and with good results, for the treatment of the synovitis in equine practice. Clinical results include diminished effusion in joints, in tendon sheaths and in bursas. However, changes produced in the synovial fluid have not been described. The objective of this study was to evaluate changes in pH, white cell count, viscosity, concentration of protein and quality of the mucin clot in synovial fluid, before and after the injection of atropine sulfate in the radio-carpal joint of six healthy horses at two different doses (1mg and 3mg), and of sterile water in the opposite joint for control. The viscosity of the synovial fluid in the joints treated with 3 mg of atropine sulfate increased ($P < 0.05$) and remained higher than the values for the other joints. The quality of the mucin clot in the joints treated with 3 mg of atropine sulfate was always very good (degree 1), whereas in the joints treated with sterile water or with 1 mg of atropine sulfate were not significantly different. Concentrations of atropine sulfate in synovial fluid and in plasma were determined by high performance liquid chromatography. Atropine was not detected in plasma after either of the two different doses. Detectable concentrations in synovial fluid were no less than 5ng/ml, four hours post-injection. Results of pharmacokinetic analysis (PKAnalyst) using a one-compartment model, revealed that the average elimination from the joints treated with 1 mg of atropine sulfate was 4, 07 μg atropine sulfate/ml of synovial fluid/hr and in joints treated with 3 mg was 7, 5 atropine sulfate/ml of synovial fluid/hr, with a mean residence time of 4 hours in the synovial fluid. Results of this study suggest that a dose of 3 mg of atropine sulfate can produce measurable and beneficial changes in synovial fluid of the radio-carpal joint of horses before being rapidly eliminated. That dose of atropine sulfate did not create measurable concentrations in plasma and did not result in adverse effects.

Key words; atropine sulfate, intra-articular, horses.

Identificación y efecto del sulfato de atropina inyectado en la articulación radio-carpal en caballos biomecánicamente y radiográficamente sanos.

I. INTRODUCCION.

El caballo a través de la historia ha sido sometido a trabajos físicos extenuantes por su condición corporal y física así como por su fuerza. Existen diversas funciones zootécnicas a las que el caballo es sometido, en donde se combina la velocidad, la precisión y la rapidez en sus movimientos y esto da como resultado un excesivo uso y desgaste tanto en articulaciones como en tendones y bursas, provocando inflamación de las mismas, proceso denominado sinovitis, por lo tanto esto incrementa la cantidad de sangre que llega a estos tejidos, dando como resultado mayor filtrado plasmático que llega a las estructuras sinoviales ya mencionadas. Clínicamente esto se puede observar mediante una distensión de la cápsula articular, de la vaina que recubre al tendón y de la bursa debido a una mayor presión en el interior de la misma ocasionada por un aumento en el filtrado plasmático.^{1,2}

Existen numerosos tratamientos para la sinovitis, primordialmente, a base de antiinflamatorios, con diferentes vías de administración como son; sistémica, intra-sinovial y tópica, todas con el fin de disminuir la inflamación de la membrana sinovial.^{1,2} La mayoría de los antiinflamatorios de aplicación intra-sinovial utilizados en la práctica clínica son esteroidales, ya que ofrecen una pronta analgesia y con esto una notable mejoría en la condición atlética del caballo, por lo que se abusa en su administración. El abuso de los esteroides sin periodos de descanso físico y el tiempo de permanencia, hasta de 21 días, dentro de la articulación pueden ocasionar necrosis del cartílago articular, fibrosis y calcificaciones distróficas en tejidos blandos, principalmente en membrana articular promoviendo el reemplazo de los sinoviocitos por tejido cicatrizal el cual pierde la función de secretar sustancias que constituyen el líquido articular y así limitando el adecuado funcionamiento de la misma.^{3,4}

Debido a esta desventaja en la práctica clínica veterinaria se han utilizado de forma empírica tratamientos alternativos como el sulfato de atropina en casos de sinovitis obteniendo buenos resultados en la disminución de la efusión de líquido sinovial.² Este estudio tiene la finalidad de conocer la farmacocinética del sulfato de atropina administrado vía intra-articular y que cambios celulares, físicos y químicos produce en el líquido sinovial para ser utilizada con alguna evidencia y a dosis establecidas sin causar efectos adversos en la práctica clínica veterinaria y probablemente en el futuro en medicina humana.

II. REVISION DE LA LITERATURA

1. ANTECEDENTES.

La atropina se encuentra entre los fármacos más antiguos de la medicina. Muchas plantas que contienen alcaloides se han utilizado durante siglos debido a sus principios activos como la *Atropa belladonna* y esa es la razón por la que los compuestos se suelen denominar de forma genérica como alcaloides de la belladona.⁵

La palabra *Atropos* proviene de la mitología griega, mencionada por su alta toxicidad, por lo que significa: la Parca que corta el hilo de la vida.⁵

En la medicina herbolaria se utiliza la atropina vía tópica para tratar problemas artríticos disminuyendo la inflamación y el dolor.⁶

En la práctica clínica en caballos se ha utilizado empíricamente en casos de sinovitis simpáticas o no infecciosas; tanto en articulaciones como en vainas, obteniendo buenos resultados pero sin conocer como actúa y que efectos tiene sobre el líquido y la membrana sinovial.

El mecanismo exacto de cómo actúa solamente se conoce en ratas en las cuales se han hecho estudios demostrando la actividad del sulfato de atropina como constrictor de los vasos sanguíneos que irrigan la membrana sinovial logrando así la disminuir la distensión de la misma.⁴

2. FARMACOS PARASIMPATICOLITICOS

El término parasimpaticolítico se refiere básicamente a que bloquean los receptores muscarínicos, como la atropina, que es considerada como un antagonista de las acciones muscarínicas de la acetilcolina y sustancias parasimpaticomiméticas, y en menor grado puede llegar a producir estimulación vagal a nivel de los núcleos de origen central produciendo entre otros efectos la disminución en frecuencia cardíaca, a esto se le conoce como efecto paradójico.⁷

La atropina se considera dentro de varios grupos debido a sus acciones, como son: bloqueadores colinérgicos, parasimpaticolíticos, vagolíticos, colinolíticos, atropinizantes, anticolinérgicos o antimuscarínicos. También se le ha nombrado con mayor especificidad como antagonista de receptores muscarínicos o “antimuscarínico” ya que no posee la propiedad de “lisis” sobre los nervios parasimpáticos.⁸ La inhibición de los efectos estimulantes de la acetilcolina del parasimpático da lugar a efectos útiles terapéuticamente, aunque los efectos y la relativa inespecificidad son causas frecuentes de efectos colaterales indeseables.⁹

(Ver cuadro 2)

Los alcaloides naturales principales son la atropina y la escopolamina, su estructura química ha servido como prototipo para la elaboración de la mayoría de los antimuscarínicos comerciales.^{5,6}

2.2. ESTRUCTURA QUÍMICA Y FARMACOCINÉTICA DE LA ATROPINA.

La estructura química de los antimuscarínicos condiciona diferencias farmacocinéticas, en la potencia y acción ganglionar; esto debido a la molécula de nitrógeno terciario a la que estén unidos.⁸

La atropina es un éster formado por la combinación de un ácido aromático, ácido trópico y bases orgánicas complejas como la tropina. En diferentes estudios se ha visto que para el efecto antimuscarínico se requiere de un éster intacto de tropina y ácido trópico, aunque se ha observado una alta acción antimuscarínica en el ácido trópico libre.^{6,8}

Las sustancias antimuscarínicas unidas a un nitrógeno terciario, como la atropina, son más liposolubles que los que están unidos a nitrógenos cuaternarios y se absorben más fácilmente ya que atraviesan con mayor facilidad las barreras orgánicas por lo que pueden tener efectos tanto en sistema nervioso central como en terminaciones nerviosas periféricas.^{6,8}

La presencia del grupo hidroxilo libre en la porción acil del éster es de vital importancia para su mecanismo de acción. (Ver figura 1)

Debido a esta cualidad de difundirse en el organismo se han creado productos comerciales como la metilatropina, ipatropina y tiotropina, las cuales presentan un nitrógeno cuaternario unido a la molécula para impedir así su paso a la barrera hematoencefálica.⁸

La atropina decae en plasma bioexponencialmente, con una vida media exponencial de cuatro horas. En el humano aproximadamente la mitad de la dosis de atropina administrada intramuscularmente, se inactiva mediante hidrólisis hepática y el resto se puede recuperar en la orina veinticuatro horas después de su aplicación, en forma activa o como ácido trópico. La duración de la acción refleja la rapidez de su excreción, excepto en lo que respecta a la dilatación de las pupilas y la parálisis de acomodación del ojo (ciclopegia), que pueden persistir por largo tiempo especialmente cuando ésta se aplica directamente a la conjuntiva ocular.^{5,6,8}

La atropina se absorbe rápidamente en el tracto digestivo y también cuando se aplica localmente en la superficie de las mucosas corporales, su absorción a través de la piel intacta es limitada, aunque en humanos se ha observado buena absorción en la región post-auricular.⁸

2.3. FARMACODINAMIA.

La atropina; es considerada como un antagonista competitivo de la acetilcolina y de otros estimulantes muscarínicos en órganos inervados por neuronas colinérgicas posganglionares; esto quiere decir que al unirse al receptor muscarínico bloquean la acción de la acetilcolina en el sitio neuroefector.^{8,9}

(Ver figura 2)

Los receptores muscarínicos se localizan tanto en el sistema nervioso central como en el periférico y son los encargados de regular la respuesta de la acetilcolina en tejidos que reciben innervación parasimpática post-ganglionar como son el corazón y los bronquios, así también en tejidos que son inervados por fibras colinérgicas posganglionares del simpático como las glándulas sudoríparas. Aunque en la mayor parte del sistema vascular carece de innervación colinérgica, existen gran número de receptores muscarínicos que se localizan en todos los endotelios vasculares, que al ser activados por sustancias agonistas son los mediadores de la dilatación de los vasos sanguíneos.⁶

Cuando los receptores muscarínicos que se localizan en los endotelios vasculares son activados por sustancias agonistas, ocasionan la liberación de una sustancia vasoactiva llamada factor de relajación derivado del endotelio (FRDE), la cual incrementa la vasodilatación provocada por agonistas muscarínicos y por lo tanto es fácilmente antagonizada por la atropina.^{6,8}

En diversos estudios farmacológicos se ha establecido la localización de diversos subtipos de receptores muscarínicos que van desde el M1 hasta el M3, los cuales se localizan en diferentes tejidos y presentan distinta sensibilidad a la inhibición por atropina, lo que parece explicable por diferencias de accesibilidad de los receptores. Por otra parte la atropina bloquea indistintamente los receptores muscarínicos M1, M2 que se localizan en terminaciones nerviosas y músculo liso, así como los receptores tipo M3 que se localizan principalmente en endotelios vasculares.^{1,3,8} (Ver cuadro 1)

En general los antagonistas de los receptores muscarínicos tienen cierto efecto bloqueador sobre los receptores nicotínicos, el cual se ha apreciado más en las sustancias comerciales análogas de la atropina que poseen un nitrógeno cuaternario, las cuales interfieren con la transmisión ganglionar y neuromuscular. ^{1,3, 8.}

La atropina pierde especificidad a dosis muy altas de 2 mg/Kg., por lo que el antagonismo de un efecto por atropina sólo es indicativo de mediación colinérgica si se han usado concentraciones bajas de atropina. ³

En farmacología, su utilidad es muy amplia como preanestésico, en oftalmología, en patologías cardiacas y gastrointestinales, como antiespasmódico, por mencionar algunos. ^{1,3} (Ver cuadro 2)

Los parasimpaticolíticos antagonizan las acciones muscarínicas de la acetilcolina y sustancias análogas. Las dosis muy elevadas de atropina pueden reducir las acciones nicotínicas de la acetilcolina en los ganglios parasimpáticos y en la placa motora. ^{1,3, 8}

La sensibilidad de los receptores muscarínicos a los efectos de la atropina depende de las dosis administradas, de manera que solo con dosis de 0.04 mg/kg., se obtiene un bloqueo vagal completo, así la acción agonista de la atropina con la acetilcolina es más fugaz en los vasos que en los bronquios. ⁸

Las dosis terapéuticas bajas en humanos de 0.01 mg/kg, afectan sobre todo a las glándulas sudoríparas y salivales; produciendo disfagia, sequedad de la boca y piel, ligera bradicardia por acción agonista parcial en el nodo sinoauricular. Las dosis mayores intensifican los efectos citados y antagonizan las acciones parasimpáticas en el ojo y el corazón, manifestando midriasis y taquicardia sinusal. Con dosis mayores y por tiempo prolongado aparecen efectos de antagonismo vagal en el tracto gastrointestinal como son; disminución de la motilidad, disminución de secreción gástrica vagal y de secreciones intestinales. ^{5,9} (Ver cuadro 2)

La atropina tiene efectos sobre glándulas sudoríparas ya que poseen inervación simpática colinérgica, que produce sequedad y calor en piel lo que contribuye a la hipertermia producida por dosis altas de atropina. En humanos la atropina no afecta la secreción sudoral exocrina (folículos pilosos, axilas, palmas de manos y pies y genitales), ya que son estimulados por catecolaminas circulantes.^{5, 6, 8}

También se le atribuyen efectos antihistamínicos a la atropina mediante diferentes mecanismos; bloqueando de forma directa la acción de la vago sobre los receptores muscarínicos y disminuyendo así la secreción de ácido clorhídrico en estomago, a lo que se le atribuye un efecto protector de la mucosa gástrica en humanos a dosis de (0.125 mg i.m.)¹⁰, también tiene efecto antihistamínico al disminuir la cantidad de receptores H1 al bloquear los receptores muscarínicos los cuales se encuentran en gran número en células endoteliales¹¹. El otro efecto antihistamínico se debe a que tienen estructuras químicas similares lo que hace que la atropina bloquee receptores tanto muscarínicos como histamínicos.^{5, 10, 11, 12}

(Ver cuadro 1)

El uso de este fármaco intra-articularmente tiene la finalidad de bloquear los receptores muscarínicos de los endotelios vasculares que se localizan en las membranas sinoviales bloqueándolos; con el fin de disminuir así la cantidad de filtrado de plasma que llega al interior de las articulaciones.^{4, 13}

Los antimuscarínicos como la atropina se absorben más fácil ya que atraviesan con gran facilidad las barreras orgánicas por lo que pueden tener efectos tanto en sistema nervioso central como en terminaciones nerviosas periféricas.¹⁴

La atropina es metabolizada en el hígado mediante un proceso de hidrólisis y los productos de degradación que se obtienen son: apotropina, ácido trópico y ácido atrópico, los cuales han sido detectados mediante métodos de cromatografía de líquidos de alta resolución por medio de la luz ultravioleta en preparaciones comerciales, mediante diversas variaciones al pH. En soluciones acuosas la atropina tiende a deshidratarse y uno de los productos de degradación es la tropina la cual no es detectable por medio de la luz ultravioleta; esto explica

por que los efectos de atropinización en un animal perduran hasta cuatro semanas después de su aplicación ocular, siendo que veinticuatro horas post-aplicación ninguno de sus metabolitos convencionales es detectado en el organismo del animal.^{12,13, 14,15}

Existen estudios realizados con ratas donde se ha comprobado el efecto que poseen las terminaciones nerviosas que se localizan en la membrana sinovial sobre el control vasomotor de articulaciones sanas mediante receptores tanto nicotínicos como muscarínicos donde actúan diferentes sustancias aumentando así la extravasación de plasma en las mismas. En éstos mismos estudios se observó que la atropina utilizada como bloqueador de receptores muscarínicos posee la capacidad de disminuir dicha extravasación de plasma intra-sinovial inducida experimentalmente por sustancias muscarínicas como el carbachol.^{4,13, 16, 17.}

3. MORFOFISIOLOGIA DE LAS CAVIDADES SINOVIALES.

3.1. Estructura y función de la cápsula articular y de la membrana sinovial.

La cápsula que recubre a las articulaciones está constituida por tejido fibroso la cual esta en estrecho contacto con la subsinovia (subíntima o lámina propia) la cual puede estar constituida por tejido fibroso o adiposo y la sinovia (íntima o membrana sinovial) la cual esta en contacto con el líquido articular, es una membrana delgada formada por sinoviocitos. En la cápsula articular se encuentran las ramas mayores de vasos sanguíneos los cuales se ramifican en la subsinovia, y estos están acompañados de canales linfáticos y nervios.^{1, 2,15, 18,19} (Ver figura 3).

La íntima o membrana sinovial es una membrana muy delgada que actúa como barrera entre el líquido intra-vascular y el líquido intersticial de la subíntima y el líquido sinovial. La ausencia de una membrana en la base de la íntima y la proximidad de los capilares a la superficie de la íntima facilita el intercambio de los solutos.^{2, 18}

El intercambio de líquido entre el plasma y el líquido sinovial depende tanto de la presión hidrostática como de la oncótica entre ambos tejidos. La presión que existe dentro de las cavidades sinoviales les brinda un efecto de succión y de estabilización la cual depende de diferentes factores como son: tamaño de la cavidad sinovial, volumen de líquido sinovial, posición de la articulación (flexión o extensión), tipo de tejido peri sinovial, anatomía de la región, permeabilidad de la membrana sinovial y la entrada y salida de líquido dentro de la cavidad sinovial. ^{1, 2, 20}

El endotelio de los vasos sanguíneos evita que las partículas de alto peso molecular salgan de los capilares sinoviales. El espacio que existe entre los sinoviocitos, la matriz extracelular y el ácido hialurónico, el cual es secretado por los sinoviocitos, forman una barrera permeable para sustancias de bajo peso molecular que atraviesan la membrana sinovial mediante difusión pasiva. El transporte de la glucosa dentro del líquido sinovial se realiza de forma más acelerada que el resto de las partículas, mediante transporte facilitado. Las moléculas lipofílicas como el oxígeno y el bióxido de carbono se difunden libremente a través de los sinoviocitos. ^{2,20}

El líquido sinovial es un medio que brinda los elementos necesarios para las sustancias que nutren el cartílago articular. ^{1, 2}

Los sinoviocitos son células que se distribuyen en forma alineada y se dividen en A y B, los cuales poseen dos funciones importantes; la secretora y la fagocítica. Los sinoviocitos que poseen actividad fagocítica similar a la de los macrófagos son llamados tipo A, y los sinoviocitos secretores también llamados células tipo fibroblásticas son los B que sintetizan varios componentes importantes del líquido sinovial como son: el ácido hialurónico que es un componente fundamental de la matriz extracelular de los sinoviocitos y la lubricina que es una glucoproteína encargada de la lubricación del cartílago articular. ^{1, 2, 21}

La inervación de las membranas sinoviales está dada por ramas nerviosas sensoriales y rama del sistema nervioso autónomo, tanto del simpático como del

parasimpático las cuales son las encargadas de controlar tanto la vasoconstricción como la vasodilatación de los vasos sanguíneos que irrigan a estas estructuras.²⁰

Por otro lado se dice que los vasos sanguíneos reciben poca o nula inervación por parte del parasimpático, y que los receptores muscarínicos se localizan de forma independiente de inervación en las células endoteliales de los vasos sanguíneos, explicando así el efecto de la atropina al poder bloquear la vasodilatación disminuyendo la efusión articular y actuar como antimuscarínico sobre los vasos sanguíneos.¹⁴

Las bursas y las vainas que recubren a los tendones también poseen una membrana sinovial en su interior que tiene la misma función y estructura que la que se encuentra en el interior de las articulaciones.^{2, 20}

3.2. CARACTERÍSTICAS Y FUNCIÓN DE LAS FIBRAS NERVIOSAS DE LA SINOVIA.

El control neurológico de los vasos sanguíneos que irrigan a la sinovia está destinado a controlar la homeostasis en el interior de la cavidad sinovial, las fibras nerviosas están distribuidas en la cápsula fibrosa, en la sinovia y en los ligamentos, las cuales contienen fibras cortas, medianas y largas, mielinizadas y no mielinizadas. Las fibras mielinizadas son aferentes y por lo tanto son las encargadas de la sensibilidad mientras que las no mielinizadas son fibras del simpático; las cuales se encargan principalmente del control vasomotor.^{2, 17, 19, 20}

También existen neuropéptidos que se han identificado mediante inmunohistoquímica, en las articulaciones radio-carpal e intercarpiana de caballos, como son la sustancia P, la neurocinina A y el neuropéptido Y, los cuales fueron encontrados alrededor de los vasos sanguíneos de la sinovia y subsinovia así como algunos opioides como la encefalina. Esto indica que la inervación en las articulaciones tiene un papel muy importante en el control del metabolismo celular durante el crecimiento, remodelación y cicatrización, así como en los procesos endocrinos, mecánicos y nutricionales.^{2, 5, 14, 15} (Ver figura 4)

3.3. LIQUIDO SINOVIAL.

El líquido sinovial es un ultra filtrado plasmático ya que la mayoría de iones y moléculas que contiene también están presentes en el plasma a excepción del ácido hialuronico. Las proteínas de alto peso molecular no pasan al interior de la sinovia. El líquido sinovial contiene células mononucleares como son; sinoviocitos, monocitos y linfocitos constituyendo el 90 % del total celular y el 10 % restante lo conforman polimorfo nucleares en su mayoría neutrofilos. El líquido articular normal en el equino contiene menos de 500 células nucleadas / μ l. ^{13, 19,20, 21}

El análisis de líquido sinovial nos puede dar información precisa y adecuada del estado inflamatorio y/o degenerativo en el que se encuentra la teca que lo contiene; ya sea vaina, bursa o articulación por lo que la evaluación de este debe ser complementaria para el diagnostico. ^{1,2}

El Hialuronato es una proteína que se produce en la membrana sinovial y es el encargado de dar la viscosidad al líquido además de actuar como una barrera selectiva en la membrana sinovial impidiendo el paso de partículas con alto peso molecular como el fibrinogeno. El Hialuronato es degradado en procesos inflamatorios por lo que la viscosidad del líquido se ve disminuída en estos casos. ^{2, 19}

Para conocer el estado de de la teca sinovial el liquido es sometido a varias evaluaciones que a continuación se describen;

1) Apariencia.

Esta se evaluó mediante la inspección visual al momento de tomar la muestra; el líquido normal debe tener una coloración amarillo pálido, translucido y libre de partículas flotando en su interior.

Si se observan líneas de sangre bien delimitadas en este nos indica una hemorragia causada al momento de la punción; si la coloración del líquido es rojizo claro homogéneo, opaco y con partículas flotando en el interior sugiere una hemorragia activa, indicativo de una sinovitis traumática aguda así como una coloración ámbar o rojiza oscura, opaco y con partículas flotando en el interior

sugieren una hemorragia previa y son indicativos de una sinovitis traumática crónica.^{2,21}

En casos de artritis sépticas el líquido se observa desde serofribinoso hasta fibrinopurulento y en casos muy severos también hemorrágico.^{2,21, 22}

1) Volumen.

El volumen del líquido sinovial en cada articulación es muy variable y depende de muchos factores; entre ellos, edad del animal, raza, peso, hidratación y dinámica de cada articulación principalmente.^{2,20} En un estudio realizado en caballos de diferente raza, edad y peso (450 – 600 Kg.) se comprobó la variabilidad que existe en cantidad de líquido sinovial dentro de la articulación radio-carpal obteniendo como valor 11.67 ± 3.28 ml.^{21, 22, 23,24}

Por otro lado se realizó un estudio en cabras donde se utilizaron diversas técnicas matemáticas para estandarizar el volumen de líquido sinovial en articulaciones sanas y concluyeron que ningún método matemático fue exacto para predecir la cantidad de líquido articular ya que este depende de un gran número de variables difíciles de controlar.^{22, 24}

El volumen de líquido sinovial depende directamente del estado fisiológico de las estructuras que lo contienen, por ejemplo en casos de sinovitis aguda la cantidad de líquido se ve aumentada, por el contrario en casos de enfermedad degenerativa crónica en articulaciones la cantidad de líquido se ve disminuída. Se puede hablar de una teca sinovial seca en casos de fibrosis total de la membrana sinovial, donde no es posible obtener líquido del interior de la misma, ya que los sinoviocitos son reemplazados por tejido fibroso que no tiene la capacidad de secretarlo.^{1, 2, 21}

2) Formación del coagulo.

El líquido sinovial normal no forma coagulo, ya que la capacidad de coagular la da principalmente el fibrinogeno que no debe estar presente en el líquido sinovial de articulaciones sanas, así como otros factores como la protombina, tromboplastina, factor V y factor VII principalmente. Esto sugiere que el líquido

sinovial patológico si forma coagulo y el tamaño de este depende de el grado de la sinovitis.^{2, 21,15}

Algunos autores mencionan que la formación del coagulo no es un parámetro muy específico y que se puede llegar a presentar en sinovias sanas, pero con la salvedad de que este coagulo puede disolverse agitando la muestra gentilmente, a esta propiedad física que poseen los coloides se le llama tixotropismo.^{2, 21,22}

3) Proteína.

La medición de la proteína total en el líquido sinovial se realiza mediante un refractómetro de luz y si se quiere diferenciar las proteínas se recomienda realizar electroforesis, aunque no es una prueba de rutina.

La concentración de proteínas en el líquido sinovial es entre un 25 y un 35 % del total de proteínas plasmáticas del mismo animal. El valor en caballos sanos se estima es de 1.8 ± 0.2 g/dl; esto quiere decir que un líquido sinovial normal no debe de tener mas de 2 gr/dl de proteína, aunque se han reportado diferencias significativas en los valores de proteína en diferentes articulaciones del mismo caballo.^{2, 15, 21, 22}

4) Viscosidad.

La viscosidad del líquido sinovial esta directamente relacionada con el contenido y la calidad del ácido hialuronico. Esta prueba se debe realizar al momento de tomar la muestra ya que el cambio de temperatura puede hacerla variar dando mediciones erróneas.^{1, 2, 21, 22}

La prueba de la viscosidad se realiza colocando una gota de líquido sinovial entre el dedo pulgar e índice y separándolos; la longitud del hilo que forma indica la cantidad de ácido hialuronico que se encuentra en el líquido sinovial. En un líquido sinovial con viscosidad normal la longitud del hilo es de 2.5 a 5 cm. de largo antes de que se rompa. Si el hilo de ácido hialuronico tiene una longitud menor se dice que su viscosidad es baja y por lo tanto se puede pensar en un proceso inflamatorio de la membrana sinovial. En tecas sinoviales infectadas el

líquido no forma hilo de ácido hialurónico debido a que este es el principal sustrato de las bacterias.^{2, 22}

6) Calidad de la precipitación de la mucina.

Esta prueba se realiza colocando en un tubo una parte de líquido sinovial por cuatro partes de ácido acético glacial a una concentración de 2.5% y se espera que se forme el coágulo el cual se mide en una escala que a continuación se describe:

- 1.- Bueno. Coagulo firme con líquido claro alrededor.
- 2.- Regular. Se observa un coagulo blando con líquido ligeramente turbio alrededor.
- 3.- Malo. Se observa un coagulo friable y pequeño con líquido turbio alrededor.
- 4.- Muy malo. Se observan pequeños grumos con líquido muy turbio alrededor.^{2, 21, 22}

7) Examen citológico.

La cuenta total de leucocitos en el líquido sinovial se realiza manualmente en un hemocitómetro o contador de células, para esto el líquido debe de estar diluido en una solución salina fisiológica (NaCl al 0.09%) y no en el líquido convencional para contar leucocitos ya que contiene ácido acético y este puede precipitar el Hialuronato impidiendo el adecuado conteo celular.^{22,23}

3.4. PROCESO INFLAMATORIO EN CAVIDADES SINOVIALES.

Algunos autores mencionan que la inflamación de la sinovia llamada “sinovitis” es secundaria a un proceso inflamatorio dentro de la articulación llamado “artritis” debido a la gran cantidad de enzimas que son liberadas por parte de la degradación del cartílago hacia el líquido sinovial irritándola, aunque en la mayoría de los casos se desarrolla a partir de un trauma directo sobre la sinovia

ocasionando la liberación de enzimas por parte de la sinovia como es la metaloproteasa.^{1, 2, 19}

Cuando una articulación se encuentra inflamada los mecanismos encargados de la vasoregulación se alteran por lo que la perfusión sanguínea de esta se ve afectada. El flujo sanguíneo constante y controlado que irriga a la membrana sinovial es esencial para mantener la integridad de estructuras que se encuentran en el interior de la articulación como son: el cartílago articular y los ligamentos intra-sinoviales.^{4, 13,17} (Ver figura 4)

En estudios realizados con sulfato de atropina administrada intra-articularmente se comprobó la presencia de receptores muscarínicos en la sinovia, siendo los encargados de regular la cantidad de filtrado plasmático que llega a la cavidad sinovial, donde la atropina actúa bloqueándolos y dando así como resultado una respuesta antagónica, que en este caso es de vasoconstricción al bloquear los efectos de la acetilcolina uniéndose al receptor muscarínico.^{5, 14,17}

La observación de la sinovia inflamada en cortes histológicos revela la relación tan estrecha que existe entre ésta y los cambios físicos y químicos del líquido sinovial, por lo que esto nos pueden dar una idea objetiva para evaluar el grado de inflamación que existe en una cavidad sinovial desechando así otros posibles diagnósticos diferenciales.^{1, 2}

Existen otras técnicas como la artroscopia donde se pueden evaluar cambios en la sinovia durante procesos inflamatorios como son; engrosamiento de las vellosidades, petequias en la pared de la misma así como depósito de fibrina y edema, aumento en la vascularización de la misma y hemosiderosis en casos de sinovitis crónicas.^{2,22}

4. JUSTIFICACION CIENTIFICA.

En caballos no existen estudios acerca del sulfato de atropina utilizado intra-articularmente; sin embargo éste se ha utilizado empíricamente en la práctica en casos de sinovitis y tenosinovitis con aparentes buenos resultados; disminución en la cantidad de líquido sinovial tanto en articulaciones como en vainas de tendones

que se evalúa mediante la disminución en la distensión de la vaina que recubre al tendón y de la cápsula articular, sin embargo se desconoce el efecto que el sulfato de atropina tiene sobre el líquido articular así como el tiempo que este permanece dentro de la misma.²

Mediante la realización de este trabajo se desea establecer una dosis terapéutica de sulfato de atropina para problemas inflamatorios no sépticos en sinovias, así como frecuencia en la aplicación de la misma, tomando en cuenta los parámetros de: dosis diferentes utilizadas, farmacocinética y los cambios físicos en el líquido sinovial. Basado en lo anterior la posible utilización del sulfato de atropina en medicina humana como alternativa de tratamiento en procesos de sinovitis.

Otra justificación para establecer una dosis terapéutica es el bajo costo del tratamiento en comparación con otros, como sería el ácido hialurónico, antiinflamatorios no esteroideos y esteroideos, etc.

5. OBJETIVOS.

-Determinar la farmacocinética del sulfato de atropina administrado intra-articularmente en caballos, esto es; tiempo de permanencia en la articulación y concentraciones mínimas detectables tanto en la articulación como en el plasma, coeficiente de eliminación y posible distribución de la misma a otras articulaciones mediante la técnica de cromatografía de líquidos de alta resolución.

-Observar si causa o no cambios físicos, celulares y químicos causa el sulfato de atropina en el líquido articular administrado a dos dosis diferentes de 1 mg/ml y 3 mg/ml intra-articularmente.

-Evaluar que cambios físicos, celulares y químicos causa el agua inyectable en el líquido articular administrado a dos dosis diferentes de 1 ml y 3 ml intra-articularmente.

-Conocer si el sulfato de atropina administrado intra-articularmente causa alteraciones en la cápsula articular mediante la evaluación de los signos cardinales

de la inflamación que son; rubor, calor, dolor, aumento de tamaño y pérdida de la función.

-Evaluar mediante un examen del aparato locomotor las fases anterior y posterior del paso del miembro que fue sometido a la aplicación del sulfato de atropina intra-articularmente y del miembro opuesto y así conocer si causa o no claudicación.

6. HIPÓTESIS.

1. El sulfato de atropina inyectado intra-articularmente en caballos producirá cambios físicos, químicos y celulares en el líquido articular sin ocasionar dolor, rubor y pérdida de la función de la articulación.
2. Dado que el sulfato de atropina es una molécula hidrosoluble sus características de distribución y eliminación en una articulación obedecen a una cinética de primer orden.

III. MATERIAL Y METODOS.

3.1. Fase de campo.

Este estudio se realizó en la Ciudad de México, en la FMVZ-UNAM, donde se utilizaron 6 caballos biomecánicamente sanos entre 600 ± 50 Kg. de peso, los cuales se colocaron en un corral y se alimentaron con heno de avena y agua *ad libitum*.

Para tener un criterio de que los caballos se encontraban clínicamente sanos se midieron en cada uno de estos las constantes fisiológicas para corroborar que

estuvieran dentro del rango normal y estas son: temperatura corporal, frecuencia cardiaca y frecuencia respiratoria; así como un examen físico del aparato locomotor en estática, que consiste en manipulación de la articulación, palpación, así como medición de la circunferencia articular y un examen del aparato locomotor en dinámica que consiste en evaluar al caballo al paso y al trote en línea recta y posteriormente realizando pruebas de flexión de las articulación del carpo. Finalmente se tomaron radiografías, dorso-palmares y latero-mediales, de ambos carpos de cada caballo para comprobar que las superficies y bordes articulares se encontraran sin cambios patológicos observables radiográficamente.

En este trabajo se evaluaron varios parámetros, los que se describen a continuación:

Etapas I:

En ésta fase se eligieron seis caballos en forma aleatoria los cuales se dividieron posteriormente en dos grupos de tres caballos cada uno; cada caballo tiene dos unidades de estudio, que son la articulación radio-carpal de cada uno de los miembros anteriores, al primer grupo se le administró en la articulación radio-carpal la dosis baja (1 mg) de sulfato de atropina y al segundo grupo en la articulación radio-carpal se le aplicó la dosis alta (3 mg), estas dosis diferentes se establecieron en base a estudios previos en ratas.^{4,17} En la en la articulación opuesta se aplicó la misma cantidad en mililitros de agua inyectable que es el vehículo comercial que utiliza el sulfato de atropina la cual sirvió como testigo.

La zona se rasuró y preparó quirúrgicamente, con yodo y alcohol, la piel en la parte dorsal de la articulación radio-carpal, y mediante un procedimiento aséptico utilizando guantes, se puncionaron ambas articulaciones radio-carpales de cada caballo con agujas de calibre 21 y de 1 ¼ pulgadas de largo (0.8 mm de diámetro y 30 mm de largo) para administrar el sulfato de atropina y el agua inyectable, así como para obtener las muestras del líquido sinovial, donde se evaluó físicamente para tener un testigo de los valores de pH, celularidad, calidad de la mucina,

viscosidad y de proteína total del líquido sinovial de cada caballo antes de la aplicación del tratamiento y así comprobar que no existe alguna alteración antes de aplicar el sulfato de atropina y el agua inyectable dentro de cada una.

Basados en estudios previos de farmacocinéticas intra-articulares en caballos, se tomaron muestras de líquido sinovial (1 ml) a la hora 0, 0.5, 1, 4 y 6 y al día 1, 2 y 3 donde se evaluaron las características físicas y químicas del líquido sinovial comparándolo con la muestra inicial, así como con los valores de la articulación testigo.^{25,26} Se midieron también niveles de sulfato de atropina mediante el método de cromatografía de líquidos de alta resolución.^{23,24}

También se tomaron muestras de sangre (5 ml) mediante punción de la vena yugular a cada caballo después de la aplicación del tratamiento, basando el muestreo en la vida media, ya conocida, de la atropina en humanos, se realizó en tubos heparinizados con una secuencia al minuto 5, 10, 20, 30 y 45 y a la hora 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12 y 16 y al día 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 postaplicación del sulfato de atropina intra-articular. Las muestras de líquido articular y plasma se colocaron en tubos heparinizados y se almacenaron a los 20 minutos a - 4° C protegidas de la luz y estas sirvieron para medir concentraciones del sulfato de atropina en el mismo y por lo tanto conocer las cantidades y velocidad de eliminación desde la articulación hacia el plasma, y si existen niveles detectables en el mismo.^{25,26}

Etapas II.

El líquido sinovial se colectó en jeringas de 3 ml. sin anticoagulante para poder ser sometido a las siguientes evaluaciones:

- 1.- Apariencia física (color y turbidez)
- 2.- Conteo de leucocitos: en cámara de Neubauer.
- 3.- Proteína total; se midió mediante refractometría de luz.
- 4.- Prueba de la precipitación de la mucina.
- 5.- Grado de viscosidad

Posterior a su análisis físico y químico para las muestras de líquido sinovial se colocaron en tubos heparinizados y se almacenaron a - 4° C, ya que es el procedimiento que se requiere para la cromatografía de alta resolución^{27, 28}

Etapa III:

En ésta fase se evaluaron los caballos biomecánicamente en piso duro al paso y al trote en línea recta en piso de arena, y se evaluó si presentaban o no signos de claudicación, evaluando la fase anterior del paso, grado de flexión de la articulación y presencia de dolor a la flexión de la articulación involucrada, dolor a la manipulación de la articulación radio-carpal.

3.2. Fase de Laboratorio.

3.2.1 DETECCION Y CUANTIFICACION DEL SULFATO DE ATROPINA

Para medir la cantidad del sulfato de atropina se utilizo la técnica de cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) la cual permite separar, identificar y determinar compuestos afines en mezclas que difícilmente podrían separarse mediante otro proceso. La técnica se basa en la diferente velocidad con que se mueven los componentes de una mezcla a través de una fase estacionaria, mediante el flujo de una fase móvil. El resultado depende de una adecuada operación y combinación de los elementos, es decir, tipo, longitud diámetro de la columna y fase móvil. La migración diferencial en CLAR es el resultado del equilibrio de distribución de los componentes de una mezcla entre la fase estacionaria y la fase móvil. Dichos componentes se separan en la columna cromatográfica y al salir de ésta, se conducen por la fase móvil hacia un detector.

Los registros de las concentraciones y los tiempos de retención en la columna se dan en el orden que emergen y el cromatograma resultante muestra cada compuesto que sale de la columna en forma de picos simétricos con un tiempo de retención característico, por lo que este tiempo se emplea para identificar el

compuesto. El tiempo de retención de la muestra se mide desde el momento de la inyección de la muestra hasta el momento en que aparece el pico máximo en el cromatograma.^{25, 27,28}

En estudios realizados con alcaloides como la atropina se ha observado que esta tiene dos rutas principales de degradación que son la hidrólisis y la deshidratación, obteniéndose tres productos principales la apoatropina, el ácido trópico y el ácido atrópico, los cuales requieren para su identificación dos tipos de columnas diferentes, la nucleosil 5 CN para los compuestos ácidos y la nucleosil 5 NH₂ para los compuestos alcalinos. La atropina no absorbe la luz ultravioleta a 254 nm por lo que no puede ser detectada con facilidad. Para la detección del sulfato de atropina se utiliza una columna de fase inversa.^{28, 29,30} (Ver cuadro 3)

Para poder realizar el método de CLAR el cual posee una gran sensibilidad y especificidad, se requiere limpiar la muestra de partículas biológicas, en este caso proteínas, para poder tener un resultado adecuado de la farmacocinética del sulfato de atropina, ya que se requiere separarlo de las proteínas a las cuales se encuentra unido. Existen diferentes métodos estandarizados para realizarlo, la mayoría de estos son productos comerciales de filtración y decantación de proteínas que se colocan directamente, antes de la columna del cromatógrafo.^{31, 32, 33}

Existen otros métodos químicos que se realizan de forma manual, aplicando acetonitrilo directamente a la muestra de plasma y centrifugándolo, para tomar la muestra del sobrenadante e inyectarla al cromatógrafo, las proteínas quedan desnaturalizadas en el fondo del recipiente, liberando el fármaco al cual estaban unidas.^{34, 35} (Ver cuadro 3)

En este estudio la concentración del sulfato de atropina en el líquido articular y en plasma se midió mediante el método CLAR, basado en gran parte en el método descrito por *Cieri UR*, aunque con algunas modificaciones técnicas en la extracción de la muestra.³⁶

3.2.2. Condiciones del análisis.

- Columna de sílica HEC de 3.5 cm. de largo por 0.05 mm de diámetro, con un tamaño de partícula de 5µm, (marca Perkin-Elmer).
- Flujo isocrático de 1.5 ml/minuto, bomba serie 510, (marca Waters).
- Detector UV visible de 220 nm.
- Fase móvil: metanol al 99.9% / ácido pentasulfónico al 1% en solución salina (990: 10).
- Volumen de inyección real 20 µl.
- Tiempo de corrida 12 minutos.

3.2.3. Procesamiento de la muestra para la extracción del sulfato de atropina:

- 1.- Se descongelaron las muestras a temperatura ambiente.
- 2.- Se tomaron 200 µl de líquido articular y se agregaron 800 µl de metanol y se agitaron por 30 segundos en un mezclador vortex.
- 3.- Centrifugado a 2500 rpm por 15 minutos en un cabezal de 25 cm de radio, para precipitar las proteínas de la muestra.
- 4.- Se tomo 1 ml del sobrenadante para inyectarlo en el cromatógrafo de líquidos.

3.2.4. Desarrollo:

Los ensayos para la validación de este método consistieron primero en variar el pH de la solución en la cual se colocó el sulfato de atropina con ácido clorhídrico al 0.1 % N con un pH de 2.5 y metanol al 2% con un pH de 8.3 para disolver 0.1 mg de sulfato de atropina respectivamente. Se inyectaron en el cromatógrafo 20 µl de la dilución y solo fue detectada en pH alcalino; por lo que se decidió utilizar al metanol como disolvente en las muestras. Otro ensayo consistió en aplicar diferentes concentraciones de sulfato de atropina suspendidas en metanol; como fueron (0.01, 0.05, 0.005 µg/ ml) llamadas soluciones estándares. Con el área bajo la curva de cada concentración estándar se hizo una regresión lineal y posteriormente con el área bajo la curva de cada una de las muestras se infirió su respectiva concentración.^{36, 37}

Posteriormente se procedió a identificar la capacidad de recuperación del sulfato de atropina después de añadir una cantidad conocida a una muestra de líquido articular de un caballo no tratado. Esto sirvió para conocer el porcentaje de recuperación *in Vitro* de la sustancia en la muestra por medio de este método, el cual fue de un 70 % y el límite mínimo de detección que fue de 5 ng/ ml.

Una vez estandarizadas y controladas las diversas variables de la técnica cromatográfica para la detección del sulfato de atropina se procedió a inyectar las soluciones estandarizadas y posteriormente las muestras ya procesadas tanto de líquido articular como de plasma de los caballos que fueron tratados con el sulfato de atropina.

3.3. ANALISIS ESTADISTICO.

Para los datos obtenidos de las variables que se midieron en el líquido sinovial, tanto en las articulaciones tratadas como en las no tratadas, se utilizó la prueba de hipótesis para muestras pareadas usando la prueba “t” de student; ya que esta aplica en caso de que las observaciones se den en pares y las unidades experimentales se encuentren relacionadas entre si y en este caso las dos articulaciones pertenecen al mismo individuo; así mismo se utilizó un Análisis de varianza para conocer la variabilidad entre las medias de las muestras y la variabilidad dentro de cada grupo para conocer los cambios físicos y químicos del líquido sinovial entre tratamientos.^{36, 37, 38,39, 40} (Ver cuadros 4 y 5.)

3.3.1. ANALISIS FARMACOCINETICO.

Los valores farmacocinéticos del sulfato de atropina en el líquido sinovial de los caballos se obtuvieron por medio del paquete computacional PK Analyst el cual nos permite conocer los valores de eliminación y tiempo de residencia dentro de la articulación al introducir los datos obtenidos de los cromatogramas en donde se procesaron los resultados expresados en µg/ml. El modelo farmacocinético que se utilizó fue el número 1 que obedece a un compartimiento con entrada de bolo y una salida de primer orden.³⁶ (Ver cuadros 8,9 ,10 y 11.)

Este programa refiere micro-constantes que pertenecen a la entrada, en donde se analizan las siguientes variables:

Variable independiente: tiempo

Variable dependiente: concentración

Parámetros: volumen, dosis, K_{elim_half} , AUC, AUMC, Residence_time,
AUC_to_last_T, AUMC_to_last_T,
Residence_time_to_last_T

$$\text{Ecuación: concentración (tiempo)} = \frac{\text{Dosis}}{\text{Volumen}} e^{-k_{elim} \cdot \text{tiempo}}$$

Este modelo nos permite obtener un coeficiente de eliminación y la relación dosis/volumen mediante un número dado de mediciones de la concentración de la sustancia en el compartimiento sobre un periodo de tiempo. Así mismo este modelo nos reporta la vida media de la eliminación.^{40,41, 42} (Ver cuadros 10 y 11.)

Este modelo farmacocinético de compartimentalización se eligió tomando en cuenta que la articulación es un compartimiento donde se depositó el sulfato de atropina, el cual se va a eliminar al plasma.^{35,36, 37,43} (Ver figura 5)

El cálculo de la concentración de atropina en cada muestra se obtuvo con el punto de intersección en la curva de los estándares de acuerdo al área obtenida de la señal del cromatograma con un tiempo de retención igual al de los estándares. La concentración final se obtuvo multiplicando el factor de la alícuota y el de la dilución de la muestra entre el volumen del diluyente y el volumen del líquido articular.^{44, 45,46, 47} (Ver cuadros 8 y 9)

IV. RESULTADOS.

En los resultados obtenidos de las muestras de líquido sinovial: media y desviación estándar, se tomaron en cuenta los valores máximos obtenidos comparándolos con los valores cero o basales de cada articulación para así obtener las diferencias entre las medias que se encontraron en cada uno de los

parámetros con una ($P < 0.05$). En la cuenta total de células blancas del líquido sinovial antes y después de la aplicación intra-articular del sulfato de atropina a dosis de 1 mg y del agua inyectable 1 ml, se observó un aumento gradual en la celularidad, cada vez que fueron puncionadas las articulaciones para tomar la muestra, tanto en las tratadas como en las controles, presentando ambas el valor máximo de celularidad 6 horas post-aplicación, con una diferencia de 8 células/microlitro entre ambas, tomando en cuenta el valor basal de cada una, con una menor celularidad en la articulación tratada con 1 mg de sulfato de atropina.

La proteína total se elevó en ambas articulaciones, las articulaciones tratadas presentaron el valor máximo a la hora 4, mientras que las no tratadas a la hora 1, con una diferencia de 0.45 gr./dl. entre ambas. El pH presentó un aumento tanto en las tratadas como en las no tratadas a la hora 1 post-aplicación, con una diferencia de 0.3 siendo mayor en las articulaciones donde se aplicó agua inyectable.

La viscosidad aumentó en ambas articulaciones conforme fueron puncionadas teniendo el valor máximo a la hora 4 y descendiendo su valor gradualmente, con una diferencia 0.63 cm. entre las tratadas y las no tratadas, siendo esta mayor en las tratadas. En la prueba donde se evaluó la calidad del coágulo de mucina se observó en ambas articulaciones que el coágulo bajo su calidad de muy buena (grado 1) a buena (grado 2) esto a partir de la hora 4 de muestreo, y posteriormente se recuperó a grado 1 a la hora 6. (Ver cuadros 4 y 5)

Así mismo en las articulaciones donde se utilizaron 3mg del sulfato de atropina y 3 ml de agua inyectable, se puede observar que en la cuenta total de células blancas del líquido sinovial un aumento gradual en la celularidad, cada vez que fueron puncionadas las articulaciones para tomar la muestra, tanto en las tratadas como en las controles, las articulaciones tratadas presentaron el valor máximo de celularidad a la hora 24 y las no tratadas a la hora 48 con una diferencia de 13 células/microlitro entre ambas, considerando el valor basal de cada una, con una menor celularidad en la articulación tratada con 3 mg de sulfato de atropina. La

proteína total se elevó en ambas articulaciones, las articulaciones tratadas y las no tratadas presentando el valor máximo a la hora 4, con una diferencia de 1.2 gr./dl. entre ambas siendo las del valor más alto las tratadas con sulfato de atropina. El pH presentó un aumento a la hora 4 en las tratadas y en las no tratadas a la media hora post-aplicación, con una diferencia de 0.4 siendo mayor en las articulaciones donde se aplicó agua inyectable.

La viscosidad se observó en aumento en ambas articulaciones conforme fueron puncionadas con el valor máximo a la hora 4 en las tratadas y a la media hora en las no tratadas con una diferencia de 0.7 cm. entre las tratadas y las no tratadas, con valores mayores en las tratadas. En la prueba donde se evaluó la calidad del coágulo de mucina, se observó en las articulaciones no tratadas que el coágulo bajo su calidad de muy buena (grado 1) a buena (grado 2) esto a partir de la hora 4 de muestreo, y posteriormente se recuperó gradualmente a grado 1 hasta la hora 48, mientras que en las tratadas el coágulo se mantuvo en grado 1. (Ver cuadro 6 y 7)

Se compararon los datos obtenidos de cada una de las variables en los caballos tratados a dosis de 1 mg y 3 mg de sulfato de atropina así como de 1ml y 3ml de agua inyectable, donde se observó que la celularidad se elevó en todas las articulaciones con un valor máximo a la hora 6, pero este incremento se presentó en menor grado en las articulaciones tratadas a dosis de 3 mg de sulfato de atropina en comparación con el resto. (Ver figura 10)

La proteína tuvo un incremento tanto en las tratadas como en las no tratadas, teniendo un pico máximo en las tratadas con agua inyectable a 3 ml de 2.5 gr./dl a la hora 24. (Ver figura 11)

El pH aumentó indistintamente en las primeras muestras, tanto en las tratadas, como en las no tratadas. (Ver figura 12)

El valor máximo de la viscosidad se obtuvo en las articulaciones tratadas con 3 mg y posteriormente las tratadas con 1 mg de sulfato de atropina en contra de las no tratadas. En las tratadas con 3 mg la viscosidad se mantuvo en un valor por encima de 6 cm. hasta las 48 hrs. (Ver figura 13)

La prueba de la calidad de la mucina en los tratados con agua inyectable y los tratados a 1 mg de sulfato de atropina, a partir de la hora 4 post-aplicación, declino de grado 1 a grado 2 manteniéndose en grado 2 solamente en las tratadas con 3 ml de agua inyectable, mientras que en las tratadas con 3 mg permaneció en grado 1. (Ver figura 14).

En los resultados obtenidos de los cromatogramas se encontró un índice de correlación de 0.999 entre el sulfato de atropina y la superficie de señal del cromatograma. El porcentaje de recuperación que se obtuvo del sulfato de atropina en la muestra mediante el método de extracción establecido y las condiciones cromatograficas utilizadas fue de 70, utilizando el supuesto de que 11.46 ± 2.73 era la cantidad de liquido sinovial de la articulación radio-carpal en la que se aplicó el tratamiento.

En el análisis farmacocinético que se realizo mediante CLAR se observo que la vida media de eliminación en las articulaciones tratadas con 1 mg de sulfato de atropina es de 4.07 $\mu\text{g/ml/hr}$ y de las tratadas con 3 mg es de 7.5 $\mu\text{g/ml/hr}$, con tiempo de residencia del compuesto como tal dentro de la articulación, detectable por el cromatógrafo de 5ng/ml a las cuatro horas post-aplicación. (Ver cuadro 10 y 11.)

Al comparar los dos tratamientos se observa que la dosis alta de 3 mg de sulfato de atropina permite una concentración mas alta dentro de la articulación pero la eliminación también es de cuatro horas.

Se observaron diferencias en las cantidades de sulfato de atropina entre uno de los caballos, donde su tiempo de eliminación de la articulación fue mayor con respecto a los otros, con una diferencia de 1.7 entre los valores de los otros caballos. (Ver cuadro 10)

Para el desarrollo de la identificación del sulfato de atropina en liquido articular se ajusto el método descrito por *Cieri UR, et al*, en donde las concentraciones de metanol de la fase móvil fueron mas altas, esto con la finalidad de disminuir el tiempo de corrida de cada muestra.³⁶

La extracción del sulfato de atropina del líquido articular se realizó mediante la precipitación de las proteínas y del ácido hialurónico adicionando metanol a la muestra 1:5, y posteriormente centrifugándolo a 2500 rpm durante 15 minutos, bajo el supuesto de que el fármaco se encontraba unido a proteínas.^{36, 44,46, 47}

La muestra ya procesada se inyecta a la bomba del cromatógrafo la cual deja pasar una cantidad de 20 µl para ser procesada. Así mismo el detector de Ultra Violeta del cromatógrafo se encuentra conectado a una computadora, la cual muestra las concentraciones del fármaco que se inyecta al cromatógrafo así como la sustancia utilizada como disolvente, representadas gráficamente. (Ver figuras 15, 16, 17, 18 y 19.)

Posteriormente se obtienen diferentes mediciones del área bajo la curva de cada muestra introducida en el cromatograma las cuales nos indican la cantidad del fármaco que se encuentra de forma inalterada en el líquido articular basados en tiempo de aplicación.⁴⁸ (Ver cuadros 8 y 9.)

Los valores de las áreas bajo la curva obtenidas en los cromatogramas se procesaron en el programa farmacocinético PKAnalyst, utilizando el modelo de infusión intravenosa de un solo compartimiento con farmacocinética de primer orden, el cual indica que el sulfato de atropina que se administró dentro de la articulación y la frecuencia a la cual se elimina es proporcional a la cantidad que esta presente dentro de la articulación de cada caballo, con una ($P < 0.01$), con un coeficiente de correlación entre la concentración del fármaco y el tiempo de 0.98 para los caballos tratados con 1 mg y de 0.99 para los caballos tratados con 3 mg lo que indica un alto grado de asociación entre las variables. (Ver figuras 20, 21, 22, 23, 24 y 25.)

El coeficiente de determinación obtenido fue de 0.97 para el promedio de los caballos tratados con 1 mg y de 0.99 para los caballos tratados con 3 mg de sulfato de atropina intra-articularmente; lo que nos indica el grado de asociación entre las variables (tiempo y concentración) y que tanta variación se debe al modelo farmacocinético estadístico utilizado, por lo tanto con los valores que se obtuvieron indica un alto grado de asociación entre las variables, así como una

buena elección en el modelo estadístico farmacocinético utilizado. ^{43,48}(Ver cuadros 10 y 11)

V. DISCUSION Y CONCLUSIONES

La cromatografía en capa fina es un método para la extracción y cuantificación de sustancias, en este caso del sulfato de atropina en su fase estacionaria, en donde se utilizan placas de vidrio a los cuales un gel de sílica para alcaloides, este método es altamente específico para detectar a la atropina pero poco sensible, es decir se necesitan grandes dosis de la sustancia para poder ser detectable.

Para detectar al sulfato de atropina y sus metabolitos es necesario variar el pH hasta encontrar el adecuado para su detección; por lo que se realizaron diferentes ensayos, con muestras que contenían sulfato de atropina, en medio neutro, alcalino y ácido con una dilución 1:10 de 1mg /1 ml dando 100µg/ ml y donde fue posible su detección por medio de vapores de yodo en el medio neutro a cuatro diferentes concentraciones: 1, 2, 4 y 8 µg. ³¹

Debido a la baja sensibilidad de la prueba de Cromatografía de capa fina CCF se realizo el método de CLAR. El cual requiere que la muestra sea sometida a una serie de procesos químicos antes de ser procesada; para depurar restos orgánicos de la misma y liberar el compuesto que se encuentre unido a proteínas. ^{31,44}

Mediante el método CLAR la concentración mínima que se pudo detectar fue de 5 ng/ ml de sulfato de atropina al introducir diferentes concentraciones del sulfato de atropina en dilución; por lo que en ninguna de las muestras de liquido articular que se tomaron a la hora 6 post-aplicación pudo ser detectado el sulfato de atropina por el cromatógrafo, esto quiere decir que pueden existir cantidades más pequeñas de esta sustancia dentro del liquido articular pero que no son detectables por este método. ^{36,44}

Para la realización del CLAR se hicieron ciertas modificaciones para la extracción de la muestra, ya que no se encontró literatura en donde se

mencionaran métodos de extracción para sustancias como la atropina en el líquido articular; y debido a la presencia del ácido hialurónico que es una glucoproteína no fue posible utilizar los métodos descritos para extracción de muestras del plasma, por lo que la realización de este estudio aporta un método alternativo para la extracción de sustancias del líquido articular, con un porcentaje de recuperación de 70.

En la mayoría de los estudios farmacocinéticos realizados en caballos que se encuentran en la literatura, el número de unidades experimentales utilizadas en este estudio fue de 6.⁴⁴

El presente ensayo es una aportación al conocimiento de la farmacocinética del sulfato de atropina administrado intra-articularmente, tomando a la articulación como un compartimiento aislado del resto del organismo, donde se administró tanto el fármaco como el agua inyectable. El resto del organismo se tomó como el sitio de eliminación del fármaco y debido a las pequeñas cantidades inyectadas intra-articularmente y al volumen de dilución tan grande en el plasma del equino no fue posible detectar al sulfato de atropina.

Los tiempos de muestreo de la articulación no fueron acortados debido a que la cantidad de líquido articular es menor en comparación con el plasma, y cada vez que se obtuviera una muestra se retiraría una cantidad importante del fármaco que se aplicó, además al puncionar una articulación con una aguja se pueden atravesar vasos sanguíneos permitiendo la entrada de sangre al interior de la misma modificando así los parámetros a medir.

Los caballos utilizados en este estudio eran clínicamente y biomecánicamente sanos, por lo que tenían un futuro zootécnico que realizar cuando terminara este proyecto por lo que se decidió tomar las muestras de líquido articular mediante punción con aguja, para disminuir la probabilidad de una infección y las modificaciones en los parámetros físicos y químicos, ya que en otro estudio realizado por Lloyd *et al.*, (1990) con fármacos en articulaciones de caballos sugieren la aplicación de un catéter intra-articular, pero la desventaja principal es favorecer la entrada de

microorganismos al interior de la misma y producir una artritis séptica, inhabilitando al caballo para realizar cualquier función zootécnica.⁴⁵

Los cambios físicos y químicos que se observaron en el líquido articular de las articulaciones tratadas con sulfato de atropina y las tratadas con agua inyectable, se pueden atribuir al simple hecho de traumatizar la membrana sinovial, como lo menciona Schumacher (2003), esto tal vez debido a la punción de la articulación con la aguja atravesando vasos sanguíneos e introduciendo así células inflamatorias y eritrocitos al interior de la articulación, o a la simple agresión al inyectar alguna sustancia al interior de la articulación provocando cambios en la misma.⁴⁷

La cantidad de fibras nerviosas parasimpáticas que inervan a los vasos sanguíneos de la membrana sinovial de las articulaciones y vainas de tendones es mas baja en comparación con la cantidad de las fibras nerviosas del simpático, por lo que el control neurovascular vasodilatador es el que predomina, sin embargo esto no concuerda con estudios realizados en ratas en donde la vasoconstricción y la disminución de filtrado plasmático esta dado por sustancias antimuscarínicas en presencia de artritis simpáticas inducidas con sustancias simpaticomiméticas.^{4, 7, 17.}

Debido a estos hallazgos el control vasoconstrictor se le atribuye más que a receptores muscarínicos en terminaciones de las fibras nerviosas, a receptores muscarínicos satélites M3 que se localizan directamente sobre el endotelio de los vasos sanguíneos, ya que se ha podido recrear experimentalmente su efecto vasoconstrictor en articulaciones, sin tener suficiente información y evidencia científica de la cantidad y subtipos de receptores muscarínicos presentes en fibras nerviosas parasimpáticas.^{4, 7, 13, 17}

Aunque la vida media del sulfato de atropina de la articulación fue de 4 horas, el efecto de esta perdura hasta por 3 semanas, ya que una porción del sulfato de atropina se queda unida al receptor bloqueándolo así de toda posible acción antagonista de la ACh sobre el mismo. Esto se ha podido comprobar en ojos

medicados con atropina donde aun después de suspendida su aplicación la midriasis perdura hasta por 3 semanas.⁸

Por lo que se puede concluir en este estudio la dosis que se administro de sulfato de atropina depende de los cambios que ocasiona al interior de la articulación; siendo la dosis alta de 3 mg la que produce un periodo de recuperación mas rápido en el interior de la articulación en la cantidad de células blancas y proteína, manteniendo la viscosidad del liquido articular mas elevada y por mas tiempo en comparación con las otras. (Ver figuras 8, 10, 11 y 13.)

Al no encontrar niveles detectables de sulfato de atropina en plasma, se puede recomendar utilizar la dosis alta de 3 mg intra-articularmente sin efectos adversos en el equino, ya que una de las limitantes de su uso es que ocasione íleo paralítico y por lo tanto síndrome abdominal agudo.

Asi mismo cabe mencionar que aunque la calidad del coagulo de la mucina es una prueba subjetiva, a dosis de 3 mg de sulfato de atropina el coagulo fue siempre muy bueno o grado 1 a diferencia de las otras.

La prueba de la mucina al igual que la viscosidad son parámetros para evaluar la cantidad y calidad del ácido hialuronico, por lo que en este estudio se concluye que a dosis de 3 mg el sulfato de atropina favorece la producción de ácido hialuronico aunque el mecanismo mediante el que lo realiza se desconoce, por lo que en un futuro seria interesante realizar otros estudios para conocer el mecanismo exacto de su acción dentro de las sinovias.

VI. LITERATURA CITADA:

1. McIlwraith, Trotter. Joint disease in the horse. 1st ed. U.S.A: W.B Saunders Company, 1996.
2. Stashak TS Adam's Lameness in horses. 5th ed. USA: Lea & Febiger, 2001.
3. Celeste C, Ionescu M, Poole RA. Repeated intra-articular injections of triamcinolone acetonide alter cartilage matrix metabolism measured by biomarkers in synovial fluid. J Ortho Res 2005; 23:3 :602-610.
4. Frederick JPM, Neal LB. Sympathoadrenal contribution to nicotinic and muscarinic modulation of bradykinin-induced plasma extravasation in the knee joint of the rat. J of Pharm and Exp Ther 1992; 26: 889-895.
5. Clark WG, Brater CD. Goth: Farmacología Médica. 2ª ed. Madrid: Mosby, 1993.
6. Squier TB .Herbal Folk Medicine. 1st ed. USA: Henry Holt & Company Inc, 1998.
7. Sumano LH, Ocampo CL. Farmacología veterinaria. 2a ed. México: McGraw-Hill Interamericana, 1997.
8. Hardman J, Limbird L, Gilman GA. Goodman & Gilman's The pharmacological basis of therapeutics. 10th ed. USA: Mc Graw-Hill, 2001.
9. Lorenzo P, Moreno A. Leza JC, Lizasoain I, Moro MA. Velásquez, Farmacología Básica y Clínica. 17ª ed. España: Panamericana, 2004.
10. Moron F, Mozsik G, Nagy L. Evidence for the existence of gastric cytoprotective effect of atropine and cimetidine in humans. Acta Physiol Hung 1984; 64: 367-372.
11. Miyoshi K, Kawakami N, Wakayama Y, Izumi N, Horio S. Histamine H1 receptor down-regulation mediated by m3 muscarinic acetylcholine receptor subtype. J pharm Sci. 2004; 95: 426 – 434.
12. Craig CR, Stitzel RE Modern Pharmacology. 4th ed. USA: Little Brown and Company, 1994.

13. Coderre TJ, Basbaum AI, Levine DJ Neural control of vascular permeability: interactions between primary afferents, mast cells, sympathetic efferents. *J Neurophys* 1989; 62:1: 48-58
14. Katzung Basic & Clinical Pharmacology. 7th ed. USA: Appleton & Lange, 1998.
15. Krupp A. M. Diagnóstico Clínico y de Laboratorio. 2ª ed. México: Manual Moderno, 1998.
16. Rumbaugh ML, Burba DJ, Tetens j, Oliver JL, Williams J, et al. Effects of intra-articular injection of liquid silicone polymer in the Equine middle carpal joint. Proceedings of the 50th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners; 2004 November. Denver, USA. 1450-1456.
17. McDougall J, Elenko R.,Bray R. Cholinergic vasoregulation in normal and adjuvant monoarthritic rat knee joints. *J of the Ana Nerv Sys* 1998; 72: 55-60.
18. McDougall J, Abrogation of alpha-adrenergic vasoactivity in chronically inflamed rat knee joints. *Am J Physiol Regul Int Comp Physiol*. 2001; 281: 821-827.
19. Schumacher R. Aspiration and Injection Therapies for Joints Arthritis and Rheumatism 2003; 49: 413-420.
20. Pasquini C, Spurgeon P, Pasquini S. Anatomy of the Domestic Animals. Systemic and regional approach. 9 th ed. USA: SUDZ publishing, 1995.
21. McIlwraith CW, Synovial Fluid Analysis in the Diagnosis of Equine Joint Disease. *Equine practice*. 1980; 2: 44-49
22. Cowell RL, Tyler RD, Diagnostic cytology and hematology of the horse. 2nd ed. USA: Mosby, 2002.
23. Smith JS, Ratzlaff MH, Grant BD, Frank FL. The synovial fluid volume of the radiocarpal, intercarpal and tibiotarsal joints of the horse. *Synovial Fluid Volume*. 1979; 10:3: 479-483
24. Rorvik AM. Methods and errors in measurements of synovial fluid volume in stifles with low volume and high viscosity synovial fluid. An experimental study in goats. *Acta Vet Scan* 1995; 36: 213-222.

25. Lund U, Honoré HS, Simultaneous determination of atropine and its acidic and basic degradation products by mixed-column high-performance liquid chromatography. *J Chrom* 1978; 161: 371-378
26. Autefage A, Aluinarie M, Toutain PL, Synovial fluid and plasma kinetics of methylprednisolone and methylprednisolone acetate in horses following intra-articular administration of methylprednisolone acetate. *Equine Vet J* 1986; 18: 3: 193-198.
27. Kirchner JG. *Thin- Layer Chromatography*. 2nd ed. New York: Interscience, 1989.
28. Lau OW, Mok CS, High-performance liquid chromatographic determination of atropine and atropine-like alkaloids in pharmaceutical preparations with indirect conductometric detection. *J Chrom A* 1997; 766: 270-276.
29. Pennington LJ, Schmidt WF, Belladonna alkaloids and Phenobarbital combination pharmaceuticals analysis I: high-performance liquid chromatographic determinations of hyoscyamine-atropine and scopolamine. *J Pharm Scie* 1982 ; 71:951-953.
30. Schmidt WF, Pennington LJ, Belladonna alkaloids and Phenobarbital combination pharmaceuticals analysis II: high-performance liquid chromatographic determinations of hyoscyamine-atropine and scopolamine. *J Pharm Scien.* 1982; 71:951-953.
31. Rosiles MR, *Métodos de Toxicología Analítica*. Manual. Lab Pat Clin. México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1975.
32. Papp R, Mullett WM, Kwong E. A method for direct analysis of drug compounds in plasma using a single restricted access material (RAM) column. *Phar Biom Ana.* 2004; 6:57- 464.
33. Gage R, Stopher D, A rapid HPLC assay for voriconazole in human plasma. *J Phar Biom Ana* 1998; 17: 1449-1453.
34. Jayewardene A, Kearney B, A LC-MS-MS method for the determination of J of *Phar Biom Ana* 2001;25: 309-317.
35. Stefanovski D, Moate PJ, Boston RC. Win SAAM: a windows based compartmental modeling system. *Metabolism: Clinical and Experimental* 2001; 52: 1153 – 1166.

36. Cieri U R. Determination of atropine (Hyoscyamine) sulfate in commercial products by liquid chromatography with UV absorbance and fluorescence detection: multilaboratory study. *J of AOAC int.* 2003; 86:6: 1128-1134
37. Sams RA. Principles of drug disposition in the horse. *Clinical Pharmacology: Vet Clinics of North Am. Equine Practice.* 1987 ; 3: 221-250.
38. Mills ML, Bonnie RR, St. Jean G, et al. Determination of synovial fluid and serum concentrations, and morphologic effects of intra-articular ceftiofur sodium in horses. *Vet surg* 2000; 29: 398-406.
39. Orsini JA, Moate PJ, Engiles J, et al. Cefatoxime kinetics in plasma and synovial fluid following intravenous administration in horses. *J vet Pharm Therap.* 2004;27: 293-298.
40. Serena A, Schumacher J, Schramme et al Concentration of Metylprednisolone in the distal intertarsal joint after administration of metylprednisolone acetate into the tarsometatarsal joint. 50th Annual convention of American association of Equine practitioners. 2004: 1448-1452.
41. Moyer W, Schumacher J. A guide to equine joint infection, 3rd ed. USA: Veterinary Learning Systems, 2002.
42. Rbeida O, Christiaens B, Hubert Ph, Lubda D, Boos K-S, et al. Integrated on-line sample clean –up cation exchange restricted access sorbent for the LC determination of atropine in human plasma coupled to UV detection. *J Pharm and Biomed Anal* 2005; 36: 947-954.
43. Welling PG. Pharmacokinetics, Processes, Mathematics and Applications. 2nd ed. USA: Am Cheml Soc, 1997.
44. Zavalza SL. Farmacocinética del Piroxicam en Equinos. (tesis de maestría) . México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 2001.
45. Lloyd KC, Stover SM, Pascoe RJ, Adams P. Synovial fluid pH, cytologic characteristics, and gentamicin concentration after intra-articular administration of the drug in an experimental model of infectious arthritis in horses. *Am J Vet Res.* 1990; 51:9: 1363-1369.
46. Bayer. Equine Joint Disease. (Hyaluronate Sodium).USA: Bayer Health Care LLC, 2003.

47. Schumacher R. Aspiration and Injection Therapies for Joints. *Arth & Rheum.* 2003; 49:3: 413-420.

48. Evans WE, Schentag JJ, Jusko WJ. *Applied Pharmacokinetics*. 3rd ed. Vancouver: Applied Therapeutics, 1992.

FIGURAS

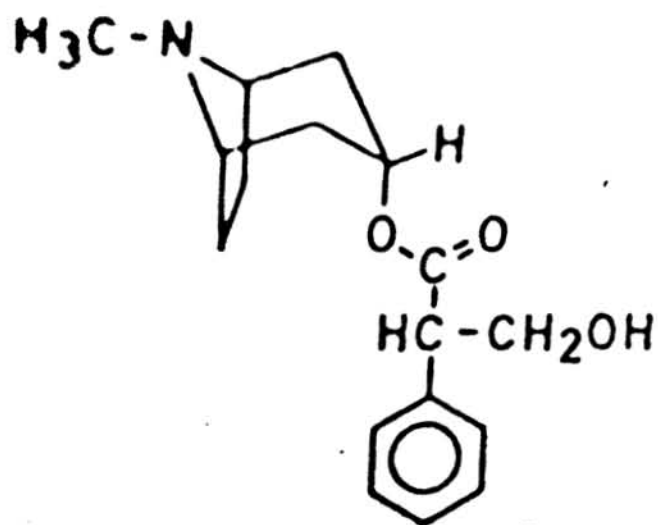


Figura 1. Estructura química de la atropina.

Tomado de: Lund U, Honoré HS, Simultaneous determination of atropine and its acidic and basic degradation products by mixed-column high-performance liquid chromatography. Journal Chromatography 1978 (161): 371-378

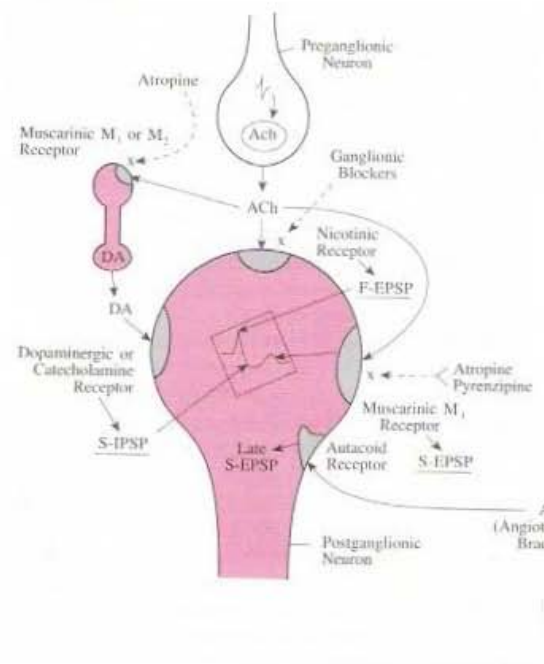


Figura 2. Sinapsis neuronal, sitios de acción y localización de receptores muscarinicos. Muscarin receptor= receptor muscarínico, Postganglionic neuron= neurona posganglionar, ACh= acetilcolina, Atropine= atropina.

Tomado de: Craig CR, Stitzel RE Modern Pharmacology. 4th ed. USA: Little Brown and Company, 1994. ⁴

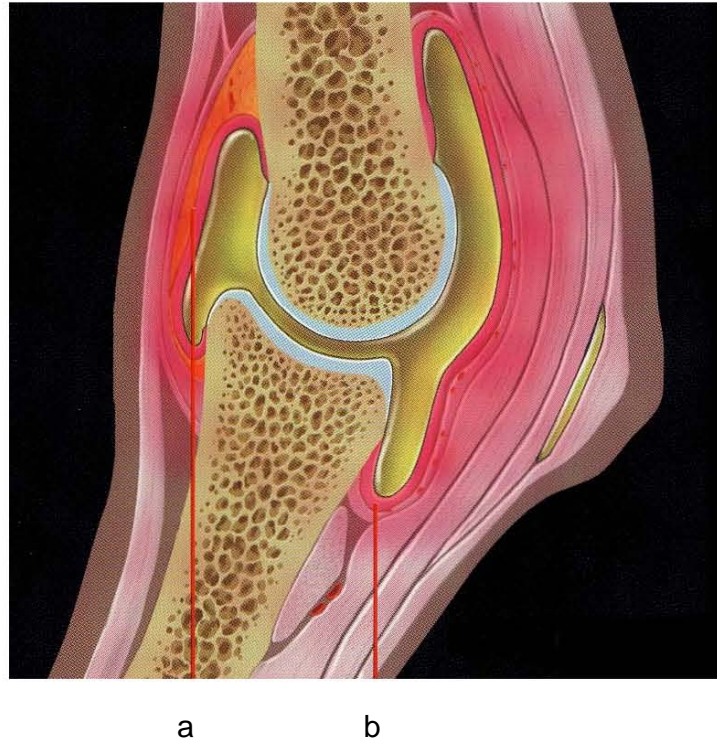


Figura 3. Estructura de una diartrosis; a: cápsula fibrosa articular, b: membrana sinovial.

Tomado de: Bayer, Equine Joint Disease. (Hyaluronate Sodium).USA: Bayer Health Care LLC, 2003.⁴⁶

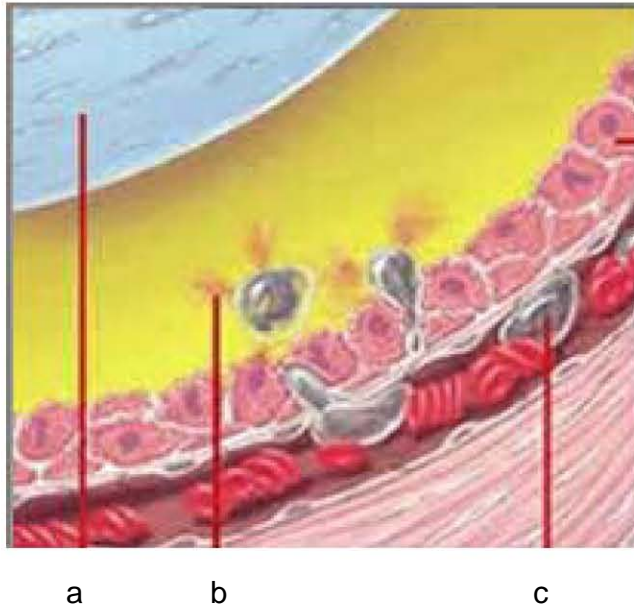


Figura 4. Estructura de una diartrosis durante un proceso inflamatorio; observe la vasodilatación para facilitar la marginación y la migración de células inflamatorias al interior de la articulación. a. Cartílago articular, b. Leucocitos y mediadores químicos de la inflamación dentro del líquido articular, c. Leucocitos migrando del vaso sanguíneo al interior de la articulación.

Tomado de: Bayer, Equine Joint Disease. (Hyaluronate Sodium).USA: Bayer Health Care LLC, 2003. ⁴⁶

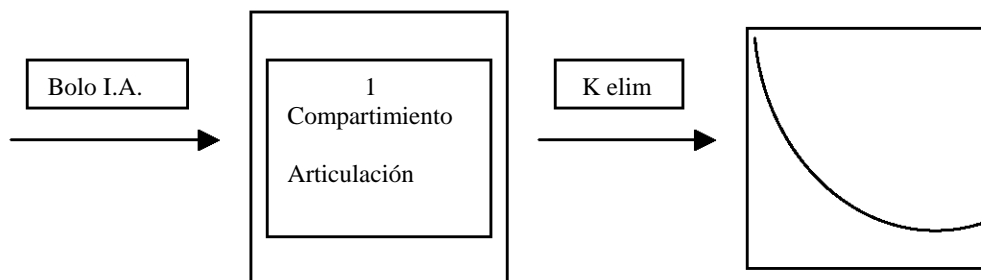


Figura 5. Modelo farmacocinético ejemplificando la forma de la aplicación del sulfato de atropina dentro de la articulación y su eliminación hacia el plasma; donde se ejemplifica el tipo de grafica que se obtiene con este modelo.

Tomado de: Welling PG. Pharmacokinetics, Processes, Mathematics and Applications. 2nd ed. USA: American Chemical Society, 1997.

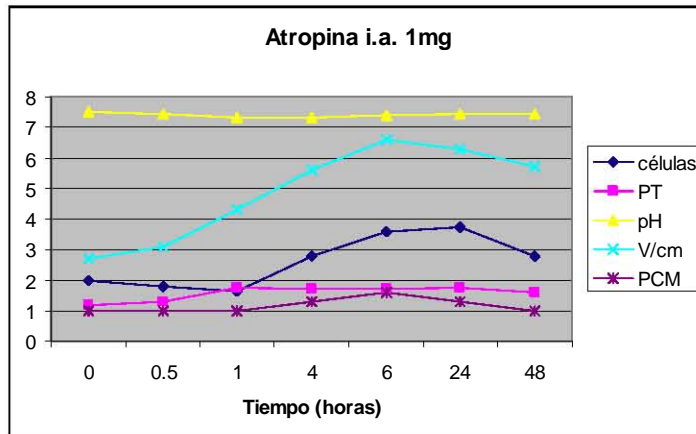


Figura 6. Gráfico de variables medidas en los 3 caballos a dosis de 1mg/ml de sulfato de atropina administrado i.a. Células = 10^{-3} /microlitro, PT= proteínas totales, pH= proteínas totales, V/cm= Viscosidad medida en centímetros, PCM= prueba de la calidad de la mucina.

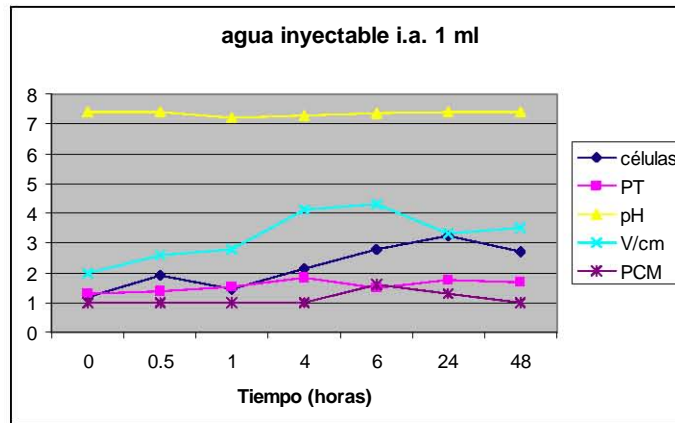


Figura 7. Gráfico de variables medidas en los 3 caballos a dosis de 1 ml de agua inyectable administrado i.a. Células = 10^{-3} /microlitro, PT= proteínas totales, pH= proteínas totales, V/cm= Viscosidad medida en centímetros, PCM= prueba de la calidad de la mucina.

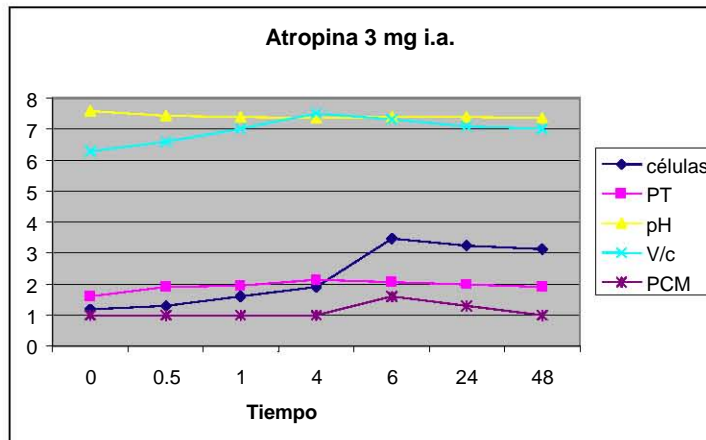


Figura 8. Gráfico de variables medidas en los 3 caballos a dosis de 3mg/ 3ml de sulfato de atropina administrado i.a. Células = 10^{-3} /microlitro, PT= proteínas totales, pH= proteínas totales, V/cm= Viscosidad medida en centímetros, PCM= prueba de la calidad de la mucina.

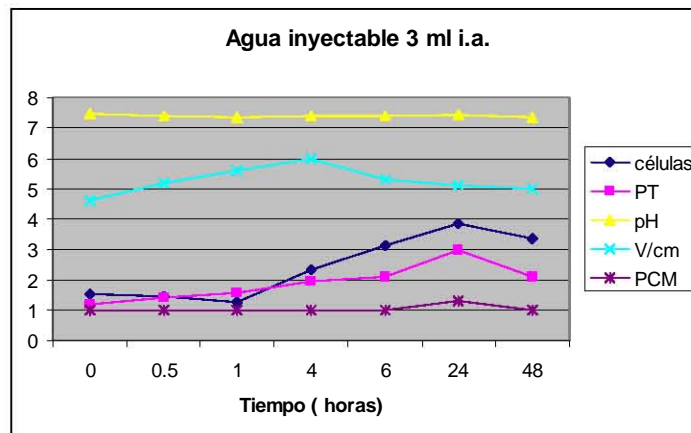


Figura 9. Gráfico de variables medidas en los 3 caballos a dosis de 3 ml de agua inyectable i.a. Células = 10^{-3} /microlitro, PT= proteínas totales, pH= proteínas totales, V/cm= Viscosidad medida en centímetros, PCM= prueba de la calidad de la mucina.

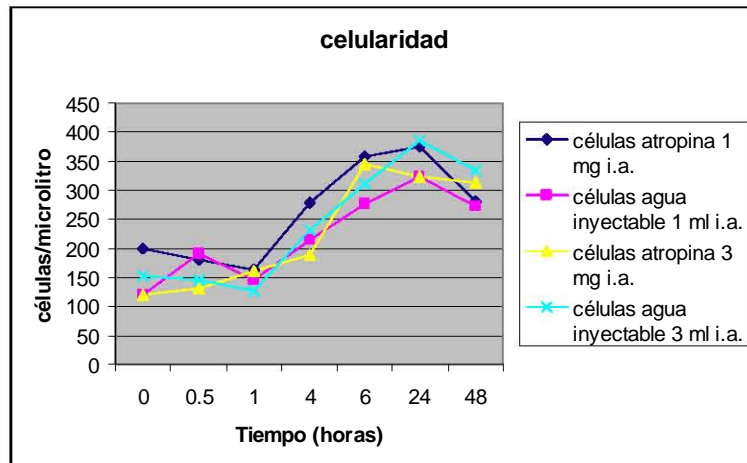


Figura 10. Gráfico del comportamiento de la celularidad en el líquido sinovial en las articulaciones tratadas a dosis de 1mg y 3 mg, así como en las articulaciones controles a las diferentes horas del muestreo.

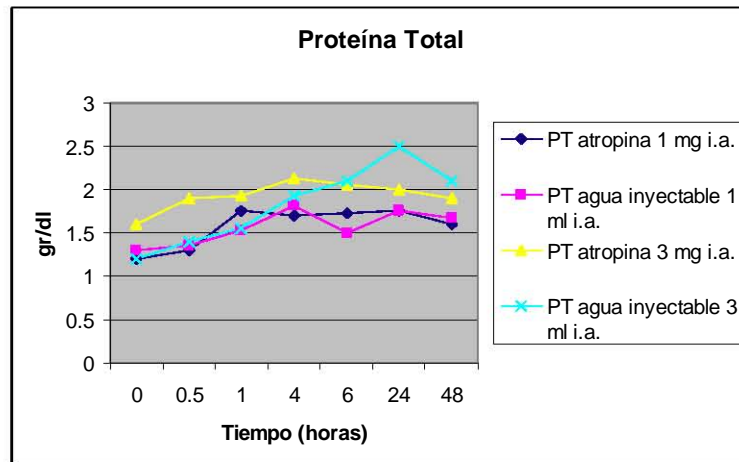


Figura 11. Gráfico del comportamiento de la proteína total expresada en gramos/decilitro, en el líquido sinovial en las articulaciones tratadas a dosis de 1mg y 3 mg, así como en las articulaciones controles a las diferentes horas del muestreo.

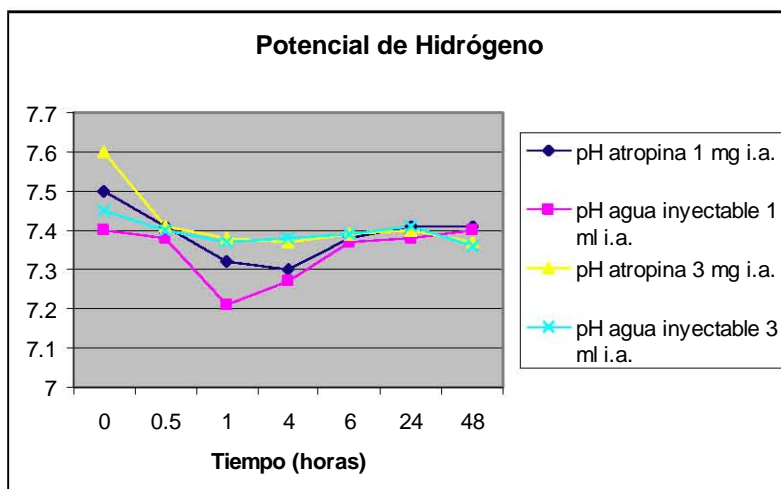


Figura 12. Gráfico del comportamiento del pH en el líquido sinovial en las articulaciones tratadas a dosis de 1mg y 3 mg, así como en las articulaciones controles a las diferentes horas del muestreo.

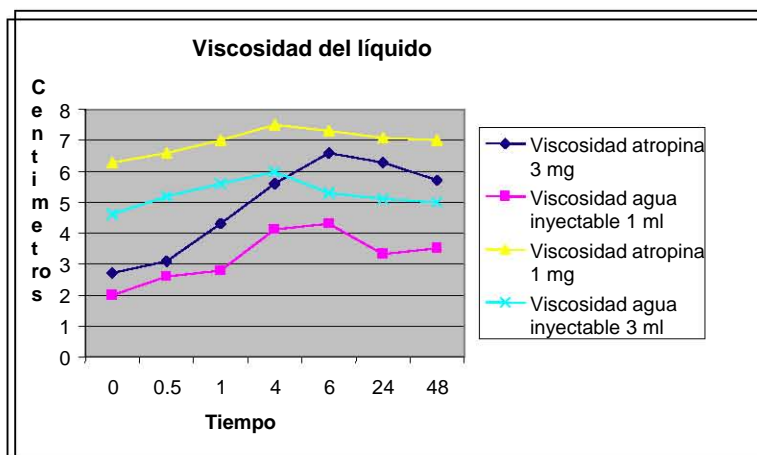


Figura 13. Gráfico del comportamiento de la viscosidad en el líquido sinovial en las articulaciones tratadas a dosis de 1mg y 3 mg, así como en las articulaciones controles a las diferentes horas del muestreo.

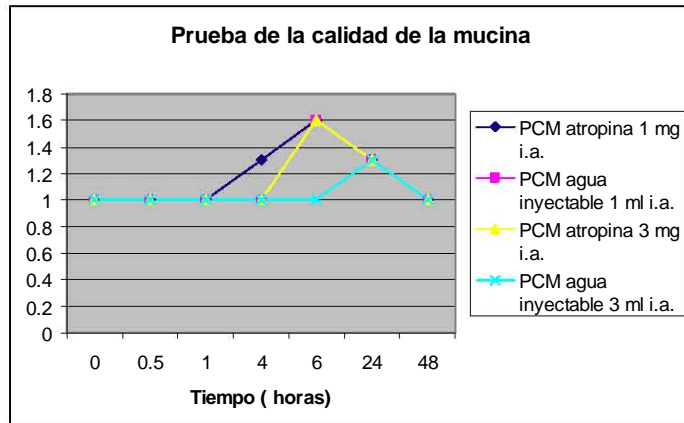


Figura 14. Gráfico del comportamiento de la calidad del coagulo de mucina en el líquido sinovial en las articulaciones tratadas a dosis de 1mg y 3 mg, así como en las articulaciones controles a las diferentes horas del muestreo.

CROMATOGRAMAS

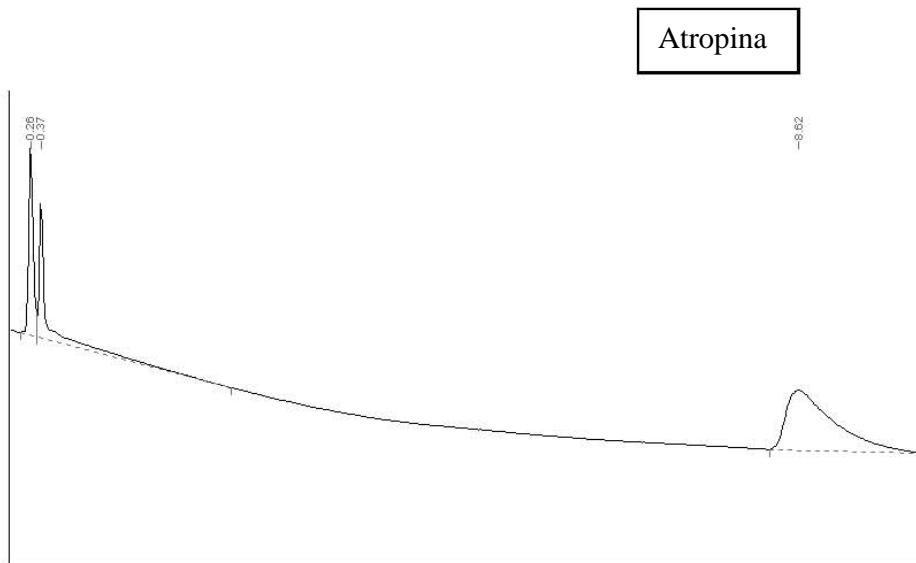


Figura 15. Cromatograma del sulfato de atropina a dosis de 1 mg i.a a la hora 1.

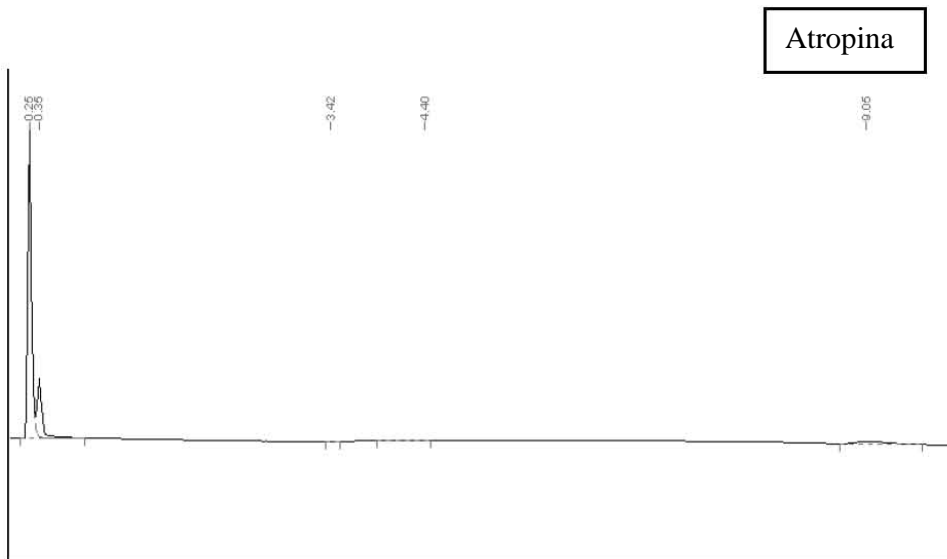


Figura 16. Cromatograma del sulfato de atropina a dosis de 1 mg i.a a la hora 4.

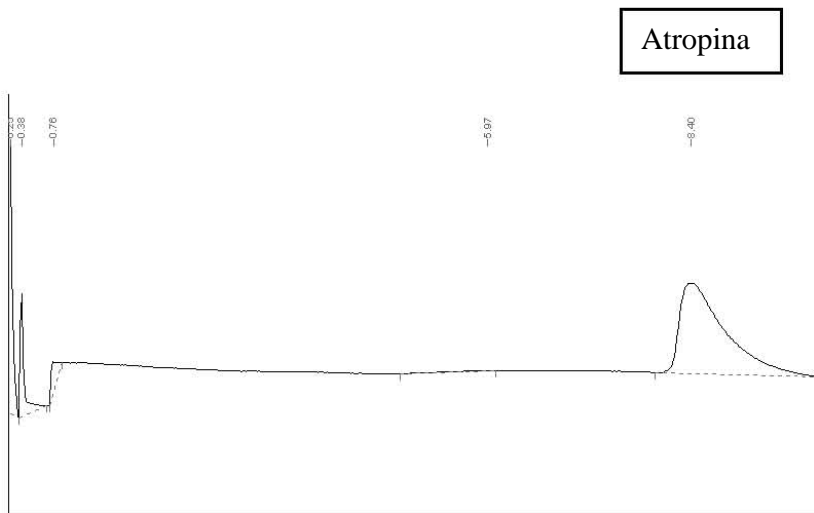


Figura 17.
Cromatograma del sulfato de atropina a dosis de 3 mg i.a a la hora 1.

Atropina

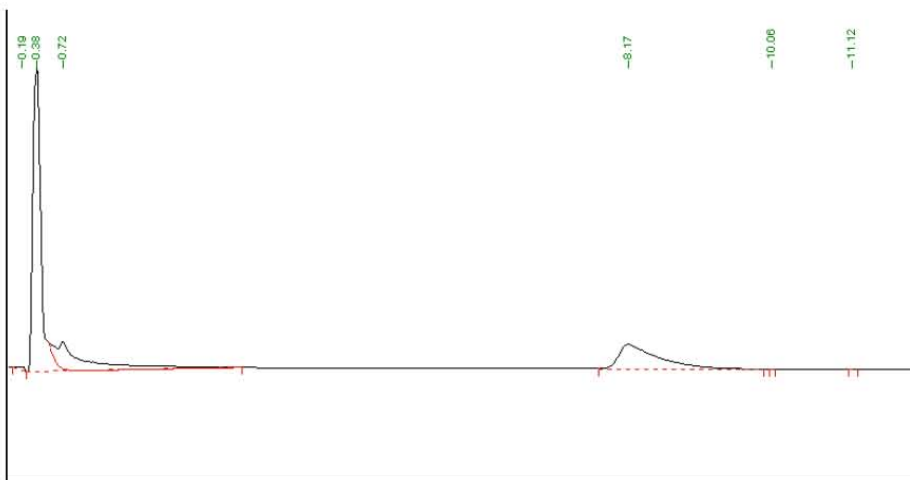


Figura 18.
 Cromatograma del sulfato de atropina a dosis de 3 mg i.a a la hora 4.

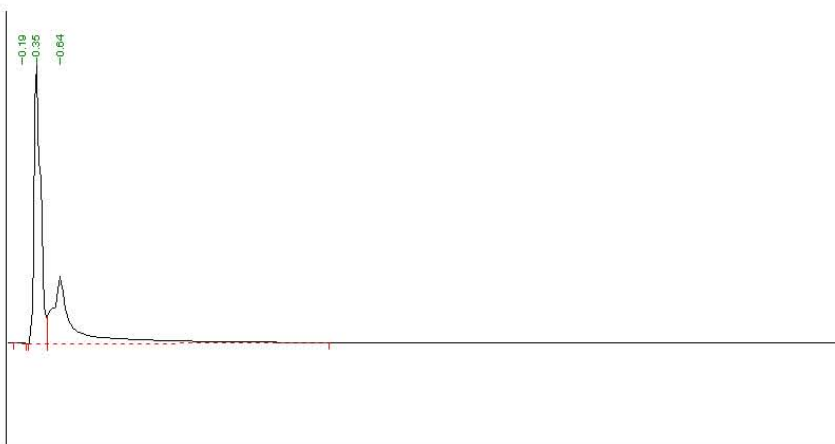


Figura 19.
 Cromatograma del agua inyectable administrada i.a. donde se observa que no se detecto sulfato de atropina.

PK Analyst Modelo #1

Un compartimiento con entrada en bolo y salida de primer orden.

Variable independiente: *Tiempo*

Variable dependiente: *Concentracion*

Parametros: *Volumen, Dosis, K_{elim}*

Calculated Quantities: *K_{elim_half} AUC, AUMC, Residence_time,
AUC_to_last_T, AUMC_to_last_T,
Residence_time_to_last_T*

CABALLO 1

Concentración ($\mu\text{g/ml/hr}$)

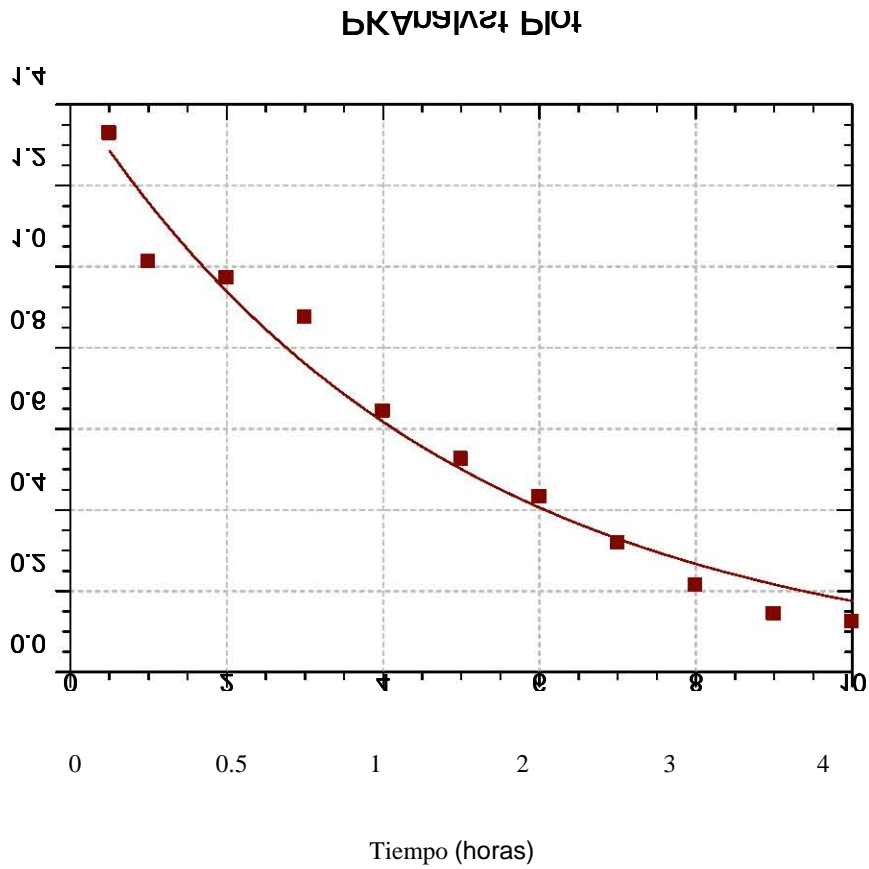


Figura 20. Relación entre la concentración del sulfato de atropina i.a. a dosis de 1mg. Concentración dada en microgramos y tiempo de muestreo. Grafico original obtenido del programa PKAnalyst.

CABALLO 2

Concentración ($\mu\text{g/ml/hr}$)

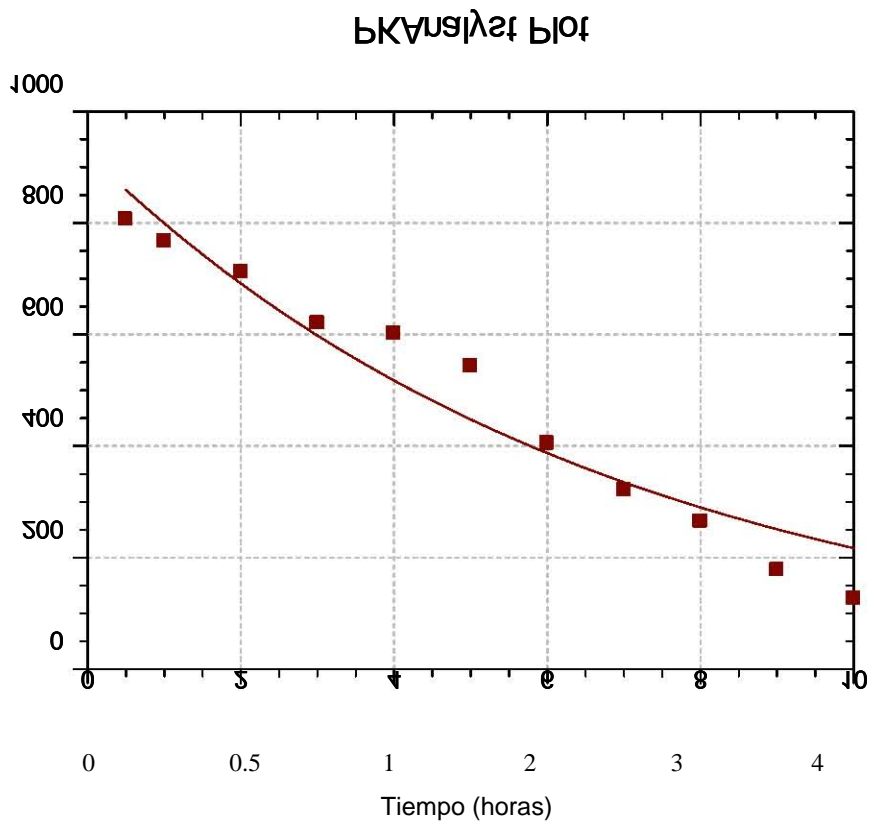


Figura 21. Relación entre la concentración del sulfato de atropina i.a. a dosis de 1mg. Concentración dada en microgramos y tiempo de muestreo. Grafico original obtenido del programa PKAnalyst.

CABALLO 3

Concentración ($\mu\text{g/ml/hr}$)

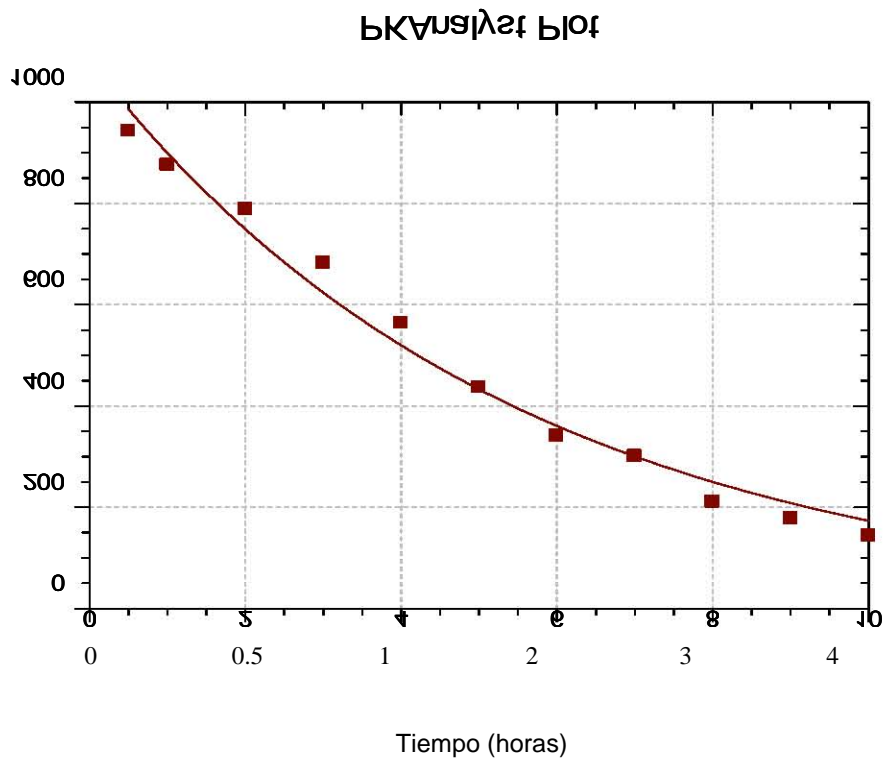


Figura 22. Relación entre la concentración del sulfato de atropina i.a. a dosis de 1 mg. Concentración dada en microgramos y tiempo de muestreo. Grafico original obtenido del programa PKAnalyst.

CABALLO 4

Concentración ($\mu\text{g/ml/hr}$)

DRUGSPT.DAT

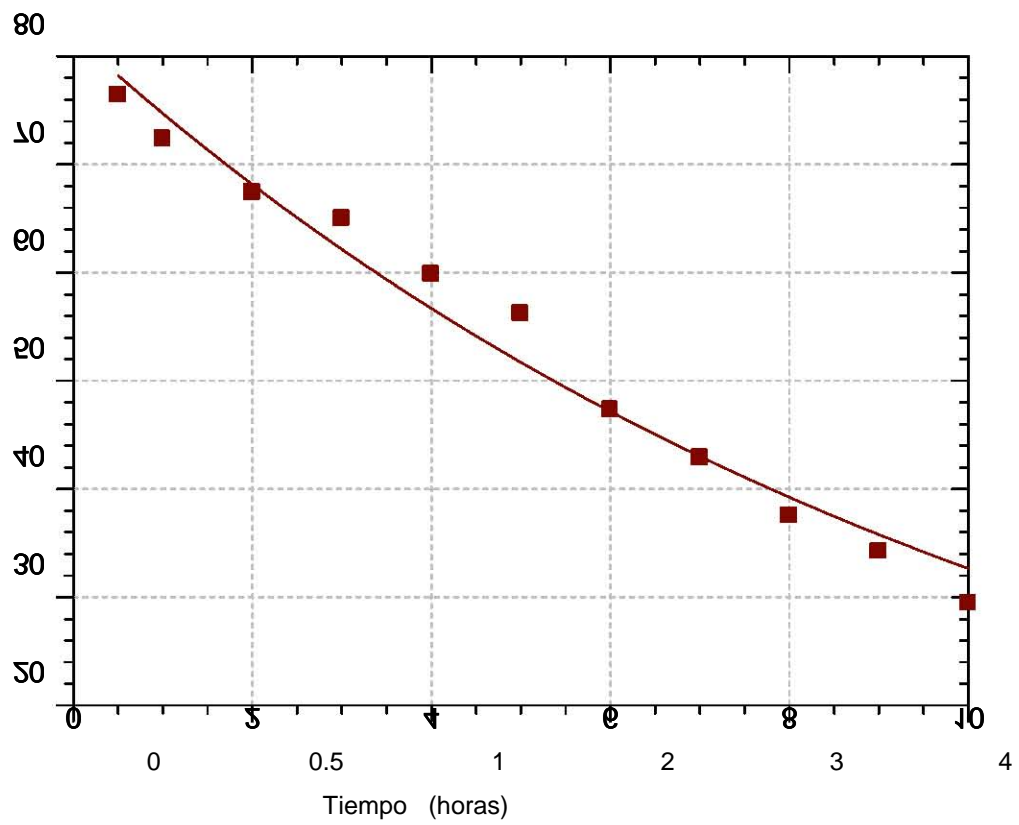


Figura 23. Relación entre la concentración del sulfato de atropina i.a. a dosis de 3 mg. Concentración dada en microgramos y tiempo. Grafico original obtenido del programa PKAnalyst.

CABALLO 5

Concentración ($\mu\text{g/ml/hr}$)

PKANALYST PLOT

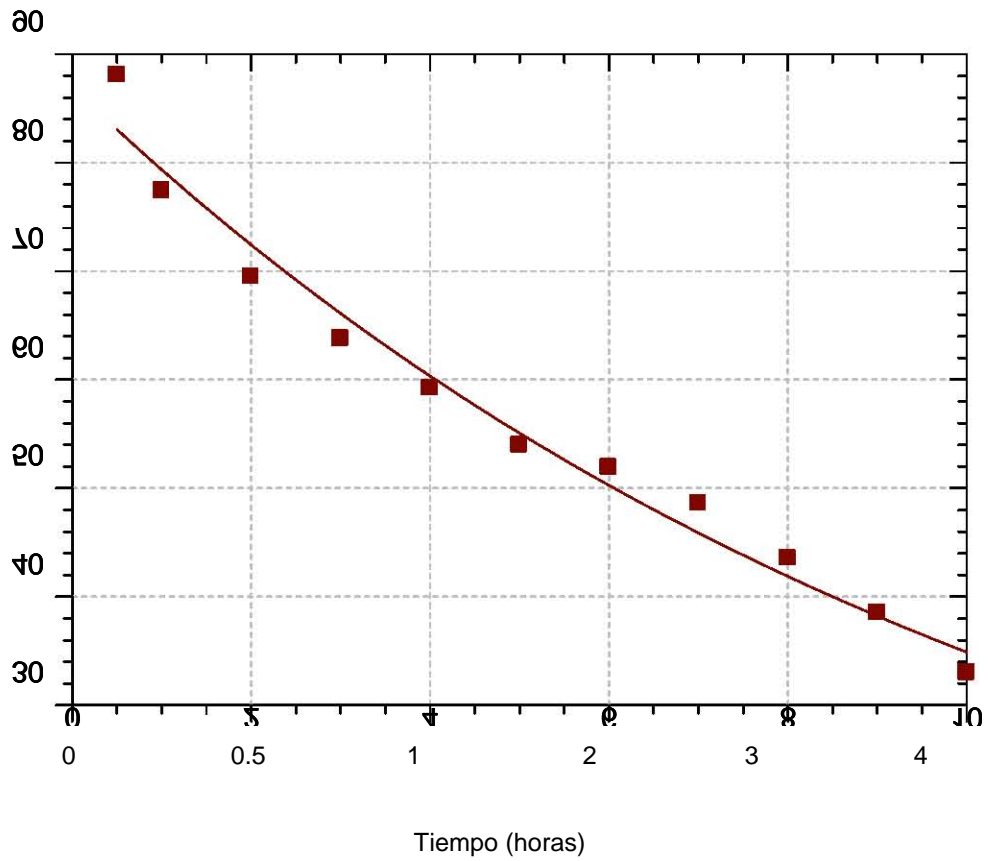


Figura 24. Relación entre la concentración del sulfato de atropina i.a. a dosis de 3 mg. Concentración dada en microgramos y tiempo de muestreo. Grafico original obtenido del programa PKAnalyst.

CABALLO 6

Concentración (µg/ml/hr)

PKAnalyst Plot

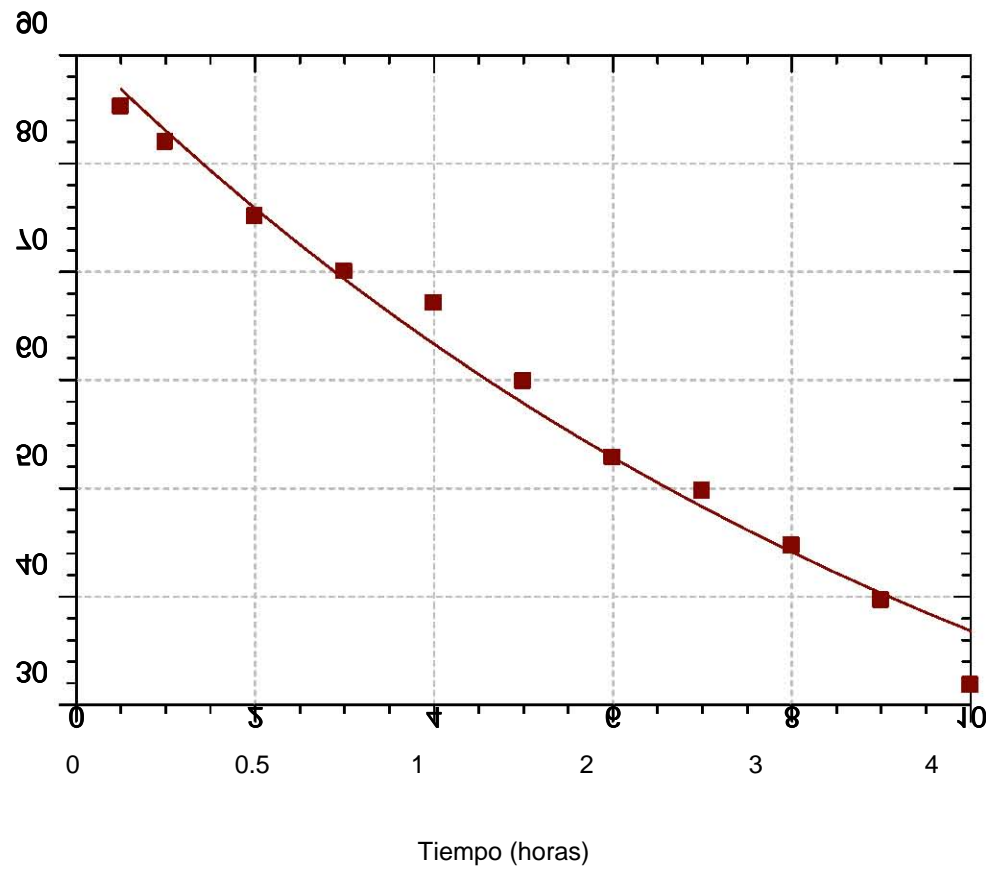


Figura 25. Relación entre la concentración del sulfato de atropina i.a. a dosis de 3 mg. Concentración dada en microgramos y tiempo de muestreo. Grafico original obtenido del programa PKAnalyst.

PROMEDIO CABALLOS TRATAMIENTO 1 (1 mg i.a.)

Concentración (µg/ml/hr)

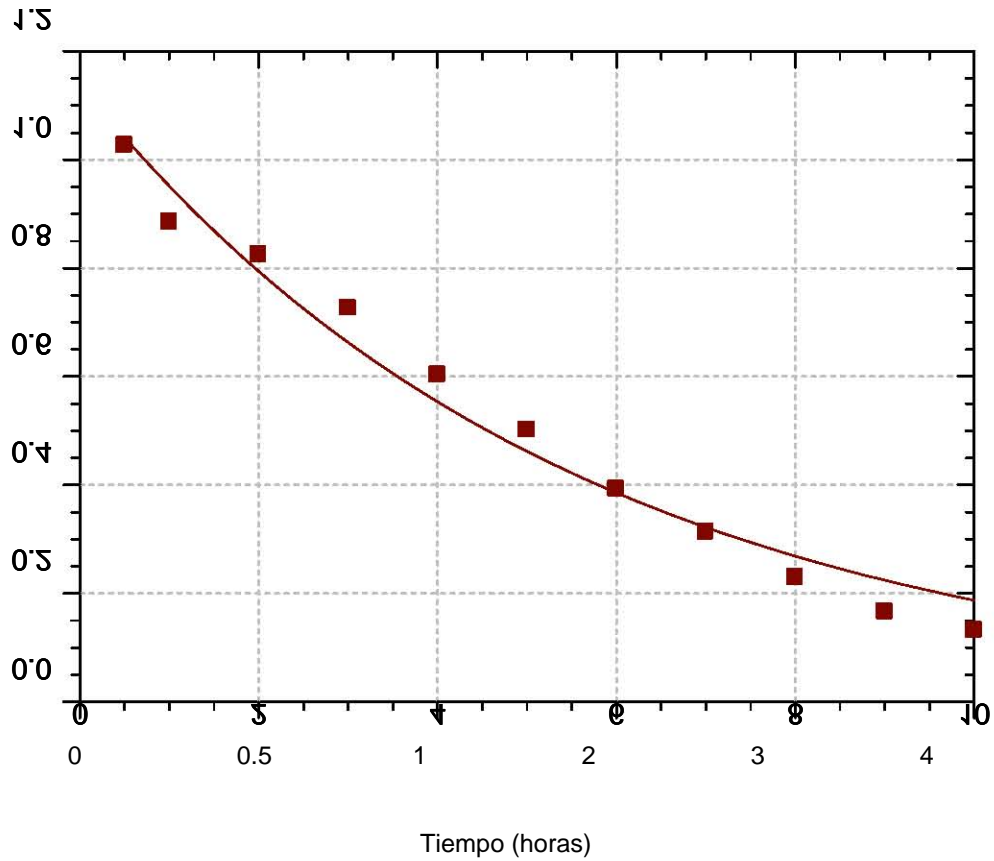


Figura 26. Relación entre la concentración del sulfato de atropina i.a. a dosis de 1 mg. Concentración dada en microgramos y tiempo de muestreo. Grafico original obtenido del programa PKAnalyst.

PROMEDIO CABALLOS TRATAMIENTO 2 (3mg i.a.)

Concentración ($\mu\text{g/ml/hr}$)

PKAnalyst Plot

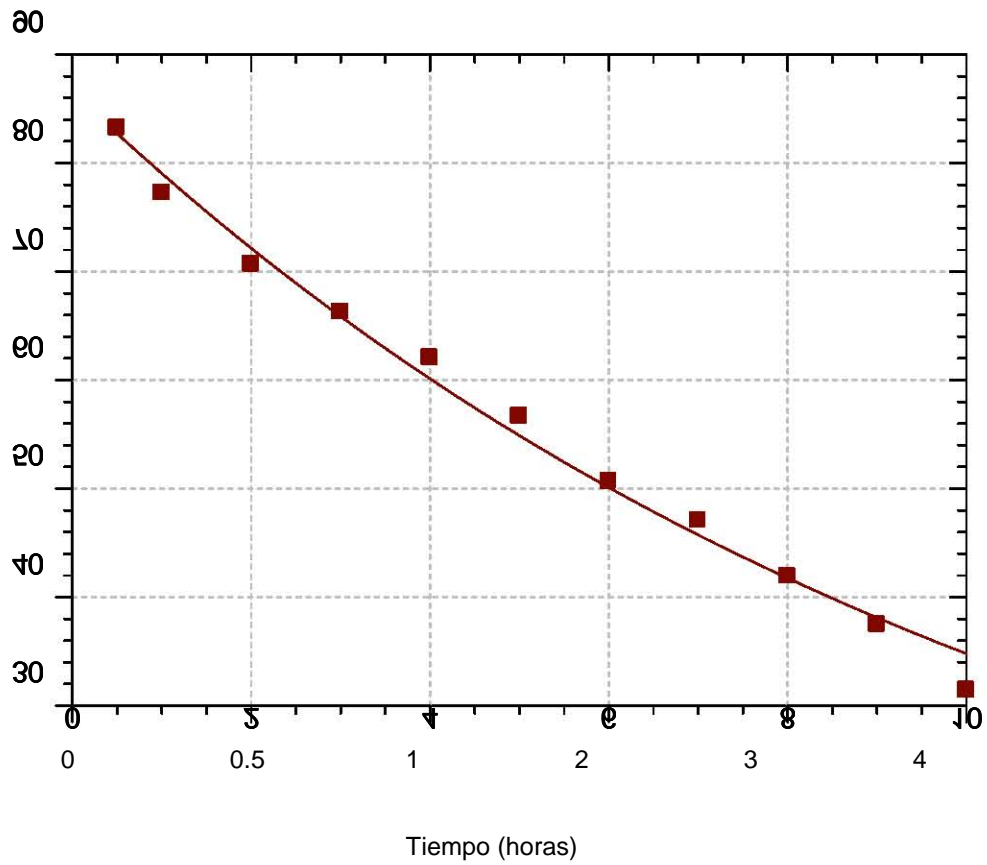


Figura 27. Relación entre la concentración del sulfato de atropina i.a. a dosis de 3 mg. Concentración dada en microgramos y tiempo de muestreo. Grafico original obtenido del programa PKAnalyst.

CUADROS

Cuadro 1

Subgrupos de receptores muscarinicos y sus antagonistas.

Subgrupos

Características	M1	M2	M3
Localización primaria	Nervios	Corazón, nervios y músculo liso	Glándulas, músculo liso,

			endotelio
Sistema efector dominante	IP3 DAG	cAMP, canales K	IP3, DAG
Antagonistas	Pirenzepina Telenzepina Diciclomina Trihexifenidil	Glutamina 1 – metoctramina	4 – DAMP, HHSD

DAG = Diacilglicerol

IP 3= inositol trifosfato

4 – DAMP = 4- Difenilacetoxi – N – metilpiperidina

HHSD = Hexahydrosiladifenidol

Tomado de: Katzung Basic & Clinical Pharmacology. 7th ed. USA: Appleton & Lange, 1998.

Cuadro 2
Respuestas fisiológicas mediadas por antimuscarínicos

Efectos sistémicos	Mecanismo
SNC	
<ul style="list-style-type: none"> • Estimulación 	<ul style="list-style-type: none"> • Centros bulbares
<ul style="list-style-type: none"> • Sedantes 	<ul style="list-style-type: none"> • Encéfalo

<ul style="list-style-type: none"> Disminución de la actividad colinérgica en el mal de Parkinson. 	<ul style="list-style-type: none"> Ganglios basales y cuerpo estriado
Cardiovascular	
<ul style="list-style-type: none"> Taquicardia Bradicardia Vasoconstricción. Vasodilatación cutánea en dosis tóxicas. 	<ul style="list-style-type: none"> Bloquea el nodo sinuauricular, e impide el efecto desacelerador del vago. Estimulación vagal en núcleos de origen central. FRDE Desconocido
Respiratorio	
<ul style="list-style-type: none"> Broncodilatación Antisecretores de glándulas bronquiales. 	<ul style="list-style-type: none"> Relajación de músculo liso Bloquea acciones ACh
Digestivo	
<ul style="list-style-type: none"> Disminución en la producción de saliva. Hipomotilidad Disminución en la secreción de HCL, pepsina y mucina en células parietales. 	<ul style="list-style-type: none"> Bloquea acciones de ACh Relajación de músculo liso Bloquea ACh
Ojo	
<ul style="list-style-type: none"> Midriasis 	<ul style="list-style-type: none"> Bloquea al tercer par craneal, inhibiendo la contracción del músculo ciliar del iris y cristalino.

SNC= Sistema Nervioso Central; FRDE = Factor de Relajación Derivado del Endotelio; ACh= Acetilcolina.

Tomado de: Clark WG, Brater CD. Goth; Farmacología Médica. 2ª ed. Madrid: 1993.

Cuadro 3

Diversos métodos de detección de atropina

Referencia	Columna	Detector	Extracción de la muestra
1. Cieri UR	Novapack 7.5 cm de sílica.	JV 220 nm	metanol – muestra (1:1; v/v)
2. Cieri UR	C18 – fase inversa	FL 225 nm	metanol – muestra (1:1; v/v)

3. Rbeida et al	Alltima C18 150 x 4.6 mm	UV 220 nm	mediante una pre-columna MAR (material de acceso restringido por medio de intercambio de cationes.
4. Ceyhan et al	C 18 – fase	UV 230 nm	la muestra es inyectada a un filtro de nylon.
5. Oi-Wah et al	CN 5Ultrasphere	UV 100 nm	agua: acetonitrilo: tetrahidrofurano (67:30:3; v/ v/ v).

Cuadro 4.

Media \pm DE, de la cuenta total de células blancas del líquido sinovial, proteína total, prueba de la calidad de la mucina, pH y viscosidad de las articulaciones radiocarpales antes y después de la aplicación IA del sulfato de atropina 1 mg/ml.

SULFATO DE TAROPINA 1 mg.

TM	células / μ l	PT	pH	V / cm	PCM
----	-------------------	----	----	--------	-----

0	220 ± 88.7	1.3 ± 0.75	7.41 ± 0.02	2.9 ± 0.8	1
0.5	361 ± 71.07	1.8 ± 0.57	7.43 ± 0.01	4.3 ± 1.15	1
1	417 ± 65.09	1.9 ± 0.91	7.5 ± 0.3	4.7 ± 1.2	1
4	470 ± 158.03	2.3 ± 1.85	7.41 ± 0.4	5.6 ± 0.57	1.3 ± 0.57
6	471 ± 50.03	2.1 ± 1.75	7.4 ± 0.1	5.3 ± 1.1	1.3 ± 0.57
24	411 ± 136.72	1.73 ± 0.64	7.41 ± 0.1	5 ± 0.57	1
48	390 ± 115.32	1.56 ± 0.28	7.41 ± 0.05	4.6 ± 1.5	1

TM= Tiempo de muestreo en horas, Células/μ l = numero de células por microlitro, PT= Proteínas totales en gr/dl, pH= Potencial de hidrogeno, V/ cm= Viscosidad en centímetros, PCM= Prueba de la calidad de la mucina.

Cuadro 5.

Media ± DE, de la cuenta total de células blancas del liquido sinovial, proteína total, prueba de la calidad de la mucina, pH y viscosidad de las articulaciones radiocarpales antes y después de la aplicación IA del agua inyectable 1 ml

AGUA AINYECTABLE 1 ml.

TM	células/μl	PT	pH	V / cm.	PCM
----	------------	----	----	---------	-----

0	220 ± 53.4	1.53 ± 0.52	7.42 ± 0.2	2.8 ± 1.04	1
0.5	263 ± 53.2	1.73 ± 0.25	7.5 ± 0.1	3.6 ± 1.32	1
1	355.3 ± 10.9	2.43 ± 0.5	7.52 ± 0.1	5 ± 1.5	1
4	390 ± 137.4	2.3 ± 0.36	7.52 ± 0.3	5.3 ± 1.52	1.3 ± 0.57
6	392 ± 138.2	2.06 ± 0.02	7.48 ± 0.4	5.1 ± 1.6	1.3 ± 0.57
24	385 ± 141.8	1.93 ± 0.02	7.45 ± 0.5	4.6 ± 1.5	1
48	363 ± 98.4	2.06 ± 0.27	7.42 ± 0.2	3.3 ± 1.54	1

TM= Tiempo de muestreo en horas, Células/ μ l = numero de células por microlitro, PT= Proteínas totales en gr/dl, pH= Potencial de hidrogeno, V/ cm.= Viscosidad en centímetros, PCM= Prueba de la calidad de la mucina.

Cuadro 6.

Media \pm DE, de la cuenta total de células blancas del liquido sinovial, proteína total, prueba de la calidad de la mucina, pH y viscosidad de las articulaciones radiocarpales antes y después de la aplicación i.a. del sulfato de atropina 3 mg/ 3ml.

SULFATO DE ATROPINA 3 mg.

TM	células/ μ l	PT	Ph	V / cm.	PCM
0	222 ± 40.8	0.93 ± 0.3	7.4 ± 0.2	6 ± 0.3	1
0.5	277 ± 50.8	1.26 ± 0.8	7.46 ± 0.2	6.8 ± 0.5	1
1	369 ± 35.9	1.53 ± 0.52	7.48 ± 0.3	7.3 ± 1.6	1
4	453 ± 112.3	2.1 ± 0.6	7.49 ± 0.1	6.6 ± 1.5	1
6	462 ± 167.9	2 ± 0.85	7.47 ± 0.2	5.8 ± 1.8	1

24	470 ± 163.2	1.9 ± 0.64	7.46 ± 0.5	5.6 ± 0.4	1
48	423.3 ± 95.2	1.8 ± 0.52	7.41 ± 0.5	5.3 ± 0.7	1

TM= Tiempo de muestreo en horas, Células/ μ l = numero de células por microlitro, PT= Proteínas totales en gr/dl, pH= Potencial de hidrogeno, V/ cm.= Viscosidad en centímetros, PCM= Prueba de la calidad de la mucina.

Cuadro 7.

Media \pm DE, de la cuenta total de células blancas del liquido sinovial, proteína total, prueba de la calidad de la mucina, pH y viscosidad de las articulaciones radiocarpales antes y después de la aplicación i.a. del agua inyectable 3 ml.

AGUA INYECTABLE 3 ml.

TM	Células / μ l	PT	pH	V/ cm.	PCM
0	210 ± 136.8	1.2 ± 0.57	7.43 ± 0.3	5.3 ± 0.6	1
0.5	282 ± 113.8	1.6 ± 0.7	7.56 ± 0.2	6 ± 1.2	1
1	389 ± 140.4	1.7 ± 0.3	7.52 ± 0.4	5.3 ± 1.3	1
4	410 ± 112.3	2.2 ± 0.1	7.46 ± 0.1	5.2 ± 0.7	1.3 ± 0.57

6	412 ± 98.2	2.1 ± 0.02	7.45 ± 0.5	5.3 ± 0.8	1 ± 0.66
24	423 ± 140.1	2 ± 0.12	7.44 ± 0.2	5.1 ± 0.4	1
48	480 ± 154.1	1.96 ± 0.3	7.42 ± 0.2	5 ± 0.3	1

TM= Tiempo de muestreo en horas, Células/ µl = número de células por microlitro, PT= Proteínas totales en gr/dl, pH= Potencial de hidrogeno, V/ cm.= Viscosidad en centímetros, PCM= Prueba de la calidad de la mucina.

Cuadro 8.

Áreas del cromatograma en cada una de las muestras procesadas de líquido articular en caballos tratados con 1mg de sulfato de atropina.

Caballos tratamiento 1 mg

Tiempo/ hr.	Área del cromatograma			Promedio del área.	Concentración µg/ml
0	0	0	0	0	0
0.25	1329	806.5	943.2	1026.23333	1026
0.4	1012	767	876	885	885
0.5	972	712	789	824.333333	824

0.7	875	621	683	726.333333	726
1	643	602	564	603	603
1.5	525	543	437	501.666667	501
2	432	405	341	392.666667	392
2.5	318	321	301	313.333333	313
3	214	265	211	230	230
3.5	143	178	178	166.333333	166
4	124	127.3	144	131.766667	131.7

Tiempo = tiempo de muestreo dado en horas, Área del cromatograma = se refiere a la concentración del fármaco en la muestra detectada por el cromatógrafo, Promedio del área promedio de las áreas del cromatograma de los caballos a la misma hora, Concentración $\mu\text{g/ml}$ = concentración del fármaco dada en microgramos/ mililitro.

Cuadro 9.

Áreas del cromatograma en cada una de las muestras procesadas de liquido articular en caballos tratados con 3mg de sulfato de atropina.

Caballos Tratamiento 3 mg

Tiempo	Área del cromatograma			Promedio del área	Concentración $\mu\text{g/ml}$
0	0	0	0	0	0
0.25	76431	88093	85234	83252.6667	18.39
0.4	72356	77432	81976	77254.6667	17.52
0.5	67421	69509	75109	70679.6667	16.56
0.7	64987	63789	70012	66262.6667	15.92
1	59845	59237	67109	62063.6667	15.31
1.5	56213	53987	59861	56687	14.53

2	47318	51908	52832	50686	13.66
2.5	42879	48609	49721	47069.6667	13.14
3	37519	43567	44672	41919.3333	12.39
3.5	34241	38523	39643	37469	11.77
4	29452	33002	31802	31418.6667	10.87

Tiempo= tiempo de muestreo dado en horas, Área del cromatograma= se refiere a la concentración del fármaco en la muestra detectada por el cromatógrafo, Promedio del área promedio de las áreas del cromatograma de los caballos a la misma hora, Concentración $\mu\text{g/ml}$ = concentración del fármaco dada en microgramos/ mililitro.

Cuadro 10.

Variables farmacocinéticas del sulfato de atropina en equinos después de una dosificación intra-articular. (1mg/ml)

Caballos 1 mg.

Variables	1	2	3	Media	DE
Peso kg	585	572	612	589.666667	16.6599987
K_ELIM_H	3.30384	5.12217	3.791	4.07233667	0.76852401
AUC	6808.63	6786.79	5908.12	6501.18	419.451522
AUMC	32452.98	50152.56	32321.07	38308.87	8374.92665
R_T	4.766	7.38973	5.47061	5.87544667	1.10872579
AUC_T	6555.65	6022.46	5762.36	6113.49	330.193985
AUC_T_L T	5973.2	5033.05	4958.43	5321.56	461.784981

AUMC TLT	20116.63	19655.53	17628.77	19133.6433	1080.62825
RTTLT	3.36781	3.90529	3.55531	3.60947	0.22274225
TAUCTLT	5964.61	5081.75	4974.59	5340.31667	443.604509

K_Elim_Half = Constante de vida media de eliminación del fármaco, AUC = Área bajo la curva de la concentración del fármaco. AUMC= Area bajo la curva del momento cero hasta infinito. R_T = Coeficiente de partición de la dosis total entre tejido y sangre. AUC_T= Área Bajo la curva Trapezoidal. AUC_T_L_T= Área bajo la curva hasta el ultimo momento. AUMC_T_L_T= Area bajo la curva desde cero hasta el ultimo momento. R_TTLT= Coeficiente de partición hasta el ultimo momento T_AUC_TLT= Área Bajo la curva Trapezoidal hasta el ultimo momento.

Valores tomados del programa PKAnalyst. DE= desviación estandar.

Cuadro 11.

Variables farmacocinéticas del sulfato de atropina en equinos después de una dosificación intra-articular. (3mg/3ml)

Caballos 3 mg

Variables	4	5	6	Media	DE
Peso kg	575	577	642	598	31.1234103
K_ELIM_H	7.53362	7.59002	7.67284	7.59882667	0.05717645
AUC	890185.8	952011.59	1006004.34	949400.577	47318.7531
AUMC	9675187.39	10424620.3	11136043.8	10411950.5	596459.43
T -R	10.86872	10.95009	11.06957	10.9627933	0.08248722
AUC_T	858213.12	930860.86	953713.75	914262.577	40716.2526
AUC_T_L_T	535454.94	570041.09	598372.31	567956.113	25728.1844
AUMC TLT	2272405.67	2422300.85	2547408.82	2414038.45	112421.48
RTTLT	4.24387	4.24934	4.25723	4.25014667	0.00548394
TAUCTLT	538107.35	569485.72	601679.02	569757.363	25953.7364

K_{Elim_Half} = Constante de vida media de eliminación del fármaco, AUC = Área bajo la curva de la concentración del fármaco. $AUMC$ = Área bajo la curva del momento cero hasta infinito. R_T = Coeficiente de partición de la dosis total entre tejido y sangre. AUC_T = Área Bajo la curva Trapezoidal. $AUC_{T_L_T}$ = Área bajo la curva hasta el ultimo momento. $AUMC_{T_L_T}$ = Área bajo la curva desde cero hasta el ultimo momento. R_{TTLT} = Coeficiente de partición hasta el ultimo momento T_AUC_TLT = Área Bajo la curva Trapezoidal hasta el ultimo momento.

Valores tomados del programa PKAnalyst.

DE = desviación estandar.

ANEXO

Anexo 1.

Valores obtenidos de las variables medidas en muestreo del líquido sinovial.
Prueba de la calidad de la mucina.

Celularidad

Tratamiento	Tiempo		celularidad	/μl			
	0	0.5hr		1hr	4hr	6hr	24hr
1 mg At	123	282	350	293	293	270	270
1 mg At	240	379	421	597	597	543	500
1mg At	297	422	480	520	520	420	400
3 mg At	382	410	487	512	512	538	495
3 mg At	180	241	410	520	520	512	500
3 mg At	104	180	210	327	327	490	420
1 ml A.I.	180	220	230	240	240	232	250
1 ml A.I.	200	280	407	420	420	412	420

		pH							
Tratamiento	0 hr	0.5 hr	1 hr	4hr	6 hr	24hr	48 hr		
At 1 mg	7.35	7.5	7.3	7.3	7.3	7.3	7.3		7.3
A t1 mg	7.37	7.47	7.5	7.43	7.4	7.4	7.4		7.4
A t1 mg	7.4	7.5	7.7	7.5	7.52	7.5	7.5		7.4
At 3 mg	7.41	7.5	7.5	7.6	7.6	7.6	7.6		7.42
At 3 mg	7.4	7.5	7.45	7.45	7.47	7.5	7.5		7.4
At 3 mg	7.4	7.41	7.5	7.5	7.4	7.4	7.4		7.4
A.I. control	7.4	7.6	1 7.5	2 7.5	2 7.5	1 7.47	1 7.42		7.42
A.I. control	7.41	7.53	1 7.5	1 7.5	1 7.5	1 7.46	1 7.42		7.42
A.I. control	7.46	7.6	17.53	2 7.5	1 7.5	1 7.43	1 7.42		7.42
A.I. control	7.4	7.6	1 7.5	1 7.5	1 7.5	1 7.45	1 7.4		7.4
A.I. control	7.4	7.6	17.56	1 7.5	1 7.5	1 7.48	1 7.47		7.47
A.I. control	7.3	7.5	1 7.5	1 7.4	1 7.4	1 7.4	1 7.4		7.4
1 ml A.I.	1	1	1	2	1	1	1		
1 ml A.I.	1	1	1	2	2	1	1		
1 ml A.I.	1	1	1	1	1	1	1		
3 ml A.I.	1	1	1	1	1	2	1		
3 ml A.I.	1	1	1	2	1	1	1		
3 ml A.I.	1	1	1	1	2	1	1		
1 ml A.I.	281	290	429	510	510	512	421		
3 ml A.I.	310	340	415	522	522	523	550		
3 ml A.I.	210	297	342	487	487	514	470		
3 ml A.I.	110	210	412	523	523	518	476		

	Proteína						
tratamiento	0 hr	0.5 hr	1 hr	4 hr	6 hr	24 hr	48 hr
At 1 mg	2	2.8	3.2	3	2	2	1.8
A t 1 mg	1	1.5	1.8	1.8	1.2	1.5	1.2
A t 1 mg	1	1.3	0.8	3.8	1.8	1.8	1.5
At 3 mg	0.5	0.8	1.2	1.8	2.8	2.5	2.2
At 3 mg	1.8	2	2.2	2.8	2	2	2
A.I. 3 mg	0.5	1	1.2	1.8	1.3	1.3	1.3
A .I. control	1.8	2	3.5	2.8	1.8	1.8	1.8
A.I. control	2	2.2	2	2	2.2	2	2
A .I .control	0.8	1	1.8	3	2.2	2	2.3
A.I. control	0.8	1.2	1.2	1.8	2	2	2
A.I. control	1.8	1.8	2	2.2	1.8	1.8	1.9
A.I. control	1	1.8	2	2.8	2.5	2.2	2

Viscosidad.

Tratamiento	0 hr	0.5 hr	1 hr	4 hr	6 hr	24 hr	48 hr
At 1 mg	2.3	5	6	5	5	5	3
A t1 mg	2.5	3	5	5	5	6	5
A t1 mg	4	5	6	7	7	6	6
At 3 mg	6	6.5	7	6	6	5	5
At 3 mg	6	7	7	7	7	6	5
At 3 mg	6	7	8	7	7	6	6
A .I. 1 ml	4	5	5	4	4	3	2
A .I. 1 ml	2	2.5	5	7	7	6	4
A .I. 1 ml	2.5	3	5	5	5	5	4
At 3 ml	6	6	6	5	5	5	5
At 3 ml	5	6	6	6	6	5	5
At 3 ml	5	6	6	5	5	5	5

Anexo 2.

Datos matemáticos obtenidos del programa PkAnalyst.

CABALLO 1

K_ELIM_HALF: 3.30384947

AUC: 6808.63130

AUMC: 32452.9819

RESIDENCE_TIME: 4.76644724

TRAPEZOIDAL_AUC: 6555.65194

AUC_TO_LAST_T: 5973.20033

AUMC_TO_LAST_T: 20116.6346

RESIDENCE_TIME_TO_LAST_T: 3.36781515

TRAPEZOIDAL_AUC_TO_LAST_T: 5964.61249

Goodness-of-fit statistics for data set: Untitled2

Data Column Name:	CONC		
	Weighted		Unweighted
Sum of squared observations :	5559237.0000		5559237.0000
Sum of squared deviations :	50059.0448		50059.0448
Standard deviation of data :	74.5795956		74.5795956
R-squared :	0.990995339		0.990995339
Coefficient of determination :	0.969000264		0.969000264
Correlation :	0.984864816		0.984864816

Data Set Name:	Untitled2		
	Weighted		Unweighted
Sum of squared observations :	5559237.0000		5559237.0000
Sum of squared deviations :	50059.0448		50059.0448
Standard deviation of data :	74.5795956		74.5795956
R-squared :	0.990995339		0.990995339
Coefficient of determination :	0.969000264		0.969000264
Correlation :	0.984864816		0.984864816
Model Selection Criterion :	3.11014022		3.11014022

Confidence Intervals:

Parameter Name :	D_OVER_V		
Estimate Value =	1428.44995		
Standard Deviation =	65.9773154		
95% Range (Univar) =	1279.19889		1577.70100
95% Range (S-Plane) =	1235.94775		1620.95214

Parameter Name :	K_ELIM		
Estimate Value =	0.209799868		
Standard Deviation =	0.0160842120		

95% Range (Univar) = 0.173414852 0.246184883
95% Range (S-Plane) = 0.162870918 0.256728817

Variance-Covariance Matrix:

4353.00614
0.770185209 0.000258701876

Correlation Matrix:

1.00000000
0.725772896 1.00000000

Residual Analysis:

The following are normalized parameters with an expected value of 0.0. Values are in units of standard deviations from the expected value.

The serial correlation is 0.16 which is probably not significant.

Skewness is 1.67 indicating the likelihood of a few large positive residuals having an unduly large effect on the fit.

Kurtosis is 0.46 which is probably not significant.

The weighting factor was 0.00 leading to a heteroscedasticity of 0.83 which suggests an optimal weight factor for this fit of about 0.83
CABALLO 2

Model File Name : PKModel #1
Data File Name : Untitled8
Param File Name : Untitled10

Calculated Variable(s):

K_ELIM_HALF: 5.12217258
AUC: 6786.79007
AUMC: 50152.5665
RESIDENCE_TIME: 7.38973299
TRAPEZOIDAL_AUC: 6022.46502
AUC_TO_LAST_T: 5033.05259
AUMC_TO_LAST_T: 19655.5398
RESIDENCE_TIME_TO_LAST_T: 3.90529196
TRAPEZOIDAL_AUC_TO_LAST_T: 5081.75201

Goodness-of-fit statistics for data set: Untitled8

Data Column Name:	CONC	
	Weighted	Unweighted
Sum of squared observations :	3321370.5400	3321370.5400
Sum of squared deviations :	52074.8041	52074.8041
Standard deviation of data :	76.0663483	76.0663483
R-squared :	0.984321290	0.984321290
Coefficient of determination :	0.907102166	0.907102166
Correlation :	0.953794048	0.953794048

Data Set Name:	Untitled8	
	Weighted	Unweighted

Sum of squared observations : 3321370.5400 3321370.5400
 Sum of squared deviations : 52074.8041 52074.8041
 Standard deviation of data : 76.0663483 76.0663483
 R-squared : 0.984321290 0.984321290
 Coefficient of determination : 0.907102166 0.907102166
 Correlation : 0.953794048 0.953794048
 Model Selection Criterion : 2.01261858 2.01261858

Confidence Intervals:

Parameter Name : D_OVER_V
 Estimate Value = 918.408025
 Standard Deviation = 58.5917197
 95% Range (Univar) = 785.864346 1050.95170
 95% Range (S-Plane) = 747.454802 1089.36125

Parameter Name : K_ELIM
 Estimate Value = 0.135322887
 Standard Deviation = 0.0169804351
 95% Range (Univar) = 0.0969104739 0.173735300
 95% Range (S-Plane) = 0.0857790243 0.184866749

Variance-Covariance Matrix:

3432.98962
 0.747946708 0.000288335175

Correlation Matrix:

1.00000000
 0.751771048 1.00000000

Residual Analysis:

 The following are normalized parameters with an expected value of 0.0. Values are in units of standard deviations from the expected value.

The serial correlation is 2.41 which indicates a systematic non-random trend in the residuals.

Skewness is -0.11 which is probably not significant.

Kurtosis is -0.38 which is probably not significant.

The weighting factor was 0.00 leading to a heteroscedacticity of -1.03 which suggests an optimal weight factor for this fit of about -1.03

CABALLO 3

Model File Name : PKModel #1
 Data File Name : Untitled20
 Param File Name : Untitled22

Calculated Variable(s):

K_ELIM_HALF: 3.79194316

AUC: 5908.12260
 AUMC: 32321.0795
 RESIDENCE_TIME: 5.47061760
 TRAPEZOIDAL_AUC: 5762.36234
 AUC_TO_LAST_T: 4958.43203
 AUMC_TO_LAST_T: 17628.7798
 RESIDENCE_TIME_TO_LAST_T: 3.55531339
 TRAPEZOIDAL_AUC_TO_LAST_T: 4974.59340

Goodness-of-fit statistics for data set: Untitled20

Data Column Name:	CONC	
	Weighted	Unweighted
Sum of squared observations :	3558900.2400	3558900.2400
Sum of squared deviations :	13096.4234	13096.4234
Standard deviation of data :	38.1465353	38.1465353
R-squared :	0.996320093	0.996320093
Coefficient of determination :	0.984438705	0.984438705
Correlation :	0.992531639	0.992531639

Data Set Name:	Untitled20	
	Weighted	Unweighted
Sum of squared observations :	3558900.2400	3558900.2400
Sum of squared deviations :	13096.4234	13096.4234
Standard deviation of data :	38.1465353	38.1465353
R-squared :	0.996320093	0.996320093
Coefficient of determination :	0.984438705	0.984438705
Correlation :	0.992531639	0.992531639
Model Selection Criterion :	3.79933220	3.79933220

Confidence Intervals:

Parameter Name :	D_OVER_V	
Estimate Value =	1079.97360	
Standard Deviation =	32.1273835	
95% Range (Univar) =	1007.29641	1152.65079
95% Range (S-Plane) =	986.235447	1173.71176

Parameter Name :	K_ELIM	
Estimate Value =	0.182794718	
Standard Deviation =	0.00941239701	
95% Range (Univar) =	0.161502396	0.204087039
95% Range (S-Plane) =	0.155332141	0.210257295

Variance-Covariance Matrix:

1032.16877
 0.221444454 8.85932175E-5

Correlation Matrix:

1.00000000
 0.732300302 1.00000000

Residual Analysis:

The following are normalized parameters with an expected value of 0.0. Values are in units of standard deviations from the expected value.

The serial correlation is 2.03 which indicates a systematic non-random trend in the residuals.

Skewness is -0.82 which is probably not significant.

Kurtosis is -0.85 which is probably not significant.

The weighting factor was 0.00 leading to a heteroscedasticity of 0.63 which suggests an optimal weight factor for this fit of about 0.63

CABALLO 4

Model File Name : PKModel #1
Data File Name : Untitled26
Param File Name : Untitled28

Calculated Variable(s):

K_ELIM_HALF: 7.53362819
AUC: 890185.8029
AUMC: 9675187.3916
RESIDENCE_TIME: 10.8687280
TRAPEZOIDAL_AUC: 858213.1286
AUC_TO_LAST_T: 535454.9491
AUMC_TO_LAST_T: 2272405.6786
RESIDENCE_TIME_TO_LAST_T: 4.24387837
TRAPEZOIDAL_AUC_TO_LAST_T: 538107.3505

Goodness-of-fit statistics for data set: Untitled26

Data Column Name:	CONC		
	Weighted		Unweighted
Sum of squared observations :	3.41124588E+10		3.41124588E+10
Sum of squared deviations :	63123410.2068		63123410.2068
Standard deviation of data :	2648.34141		2648.34141
R-squared :	0.998149550		0.998149550
Coefficient of determination :	0.975818236		0.975818236
Correlation :	0.987975223		0.987975223

Data Set Name:	Untitled26		
	Weighted		Unweighted
Sum of squared observations :	3.41124588E+10		3.41124588E+10
Sum of squared deviations :	63123410.2068		63123410.2068
Standard deviation of data :	2648.34141		2648.34141
R-squared :	0.998149550		0.998149550
Coefficient of determination :	0.975818236		0.975818236
Correlation :	0.987975223		0.987975223
Model Selection Criterion :	3.35852012		3.35852012

Confidence Intervals:

Confidence Intervals:

Parameter Name : D_OVER_V

Estimate Value = 81903.4021
Standard Deviation = 1872.42619
95% Range (Univar) = 77667.6798 86139.1245
95% Range (S-Plane) = 76440.2191 87366.5852

Parameter Name : K_ELIM
Estimate Value = 0.0920070865
Standard Deviation = 0.00520161939
95% Range (Univar) = 0.0802402059 0.103773967
95% Range (S-Plane) = 0.0768303072 0.107183866

Variance-Covariance Matrix:
3505979.8491
7.58114605 2.70568442E-5

Correlation Matrix:
1.00000000
0.778379850 1.00000000

Residual Analysis:

The following are normalized parameters with an expected value of 0.0. Values are in units of standard deviations from the expected value.

The serial correlation is 2.07 which indicates a systematic non-random trend in the residuals.

Skewness is -1.49 indicating the likelihood of a few large negative residuals having an unduly large effect on the fit.

Kurtosis is -0.47 which is probably not significant.

The weighting factor was 0.00 leading to a heteroscedasticity of 0.23 which suggests an optimal weight factor for this fit of about 0.23

CABALLO 5

Model File Name : PKModel #1
Data File Name : Untitled32
Param File Name : Untitled34

Calculated Variable(s):

K_ELIM_HALF: 7.59002961
AUC: 952011.5901
AUMC: 10424620.2771
RESIDENCE_TIME: 10.9500981
TRAPEZOIDAL_AUC: 930860.8663
AUC_TO_LAST_T: 570041.0905
AUMC_TO_LAST_T: 2422300.8512
RESIDENCE_TIME_TO_LAST_T: 4.24934429
TRAPEZOIDAL_AUC_TO_LAST_T: 569485.7298

Goodness-of-fit statistics for data set: Untitled32

Data Column Name: CONC
Weighted Unweighted

Sum of squared observations :	3.86087595E+10	3.86087595E+10
Sum of squared deviations :	61950566.2384	61950566.2384
Standard deviation of data :	2623.62273	2623.62273
R-squared :	0.998395427	0.998395427
Coefficient of determination :	0.977834714	0.977834714
Correlation :	0.988863347	0.988863347

Data Set Name:	Untitled32	
	Weighted	Unweighted
Sum of squared observations :	3.86087595E+10	3.86087595E+10
Sum of squared deviations :	61950566.2384	61950566.2384
Standard deviation of data :	2623.62273	2623.62273
R-squared :	0.998395427	0.998395427
Coefficient of determination :	0.977834714	0.977834714
Correlation :	0.988863347	0.988863347
Model Selection Criterion :	3.44559154	3.44559154

Confidence Intervals:

Parameter Name :	D_OVER_V	
Estimate Value =	86940.9191	
Standard Deviation =	1852.36770	
95% Range (Univar) =	82750.5722	91131.2659
95% Range (S-Plane) =	81536.2607	92345.5774

Parameter Name :	K_ELIM	
Estimate Value =	0.0913233830	
Standard Deviation =	0.00483597358	
95% Range (Univar) =	0.0803836507	0.102263115
95% Range (S-Plane) =	0.0772134495	0.105433316

Variance-Covariance Matrix:

3431266.0787	
6.97703237	2.33866404E-5

Correlation Matrix:

1.00000000	
0.778860395	1.00000000

Residual Analysis:

The following are normalized parameters with an expected value of 0.0. Values are in units of standard deviations from the expected value.

The serial correlation is 0.22 which is probably not significant.

Skewness is -1.84 indicating the likelihood of a few large negative residuals having an unduly large effect on the fit.

Kurtosis is -0.09 which is probably not significant.

The weighting factor was 0.00 leading to a heteroscedacticity of 3.22 which suggests an optimal weight factor for this fit of about 3.22

CABALLO 6

Calculated Variable(s):

K_ELIM_HALF: 7.67284695
AUC: 1006004.3475
AUMC: 11136043.8396
RESIDENCE_TIME: 11.0695782
TRAPEZOIDAL_AUC: 953713.7517
AUC_TO_LAST_T: 598372.3144
AUMC_TO_LAST_T: 2547408.8230
RESIDENCE_TIME_TO_LAST_T: 4.25723043
TRAPEZOIDAL_AUC_TO_LAST_T: 601679.0243

Goodness-of-fit statistics for data set: Untitled38

Data Column Name:	CONC		
	Weighted		Unweighted
Sum of squared observations :	4.24568188E+10		4.24568188E+10
Sum of squared deviations :	51270780.8608		51270780.8608
Standard deviation of data :	2386.78726		2386.78726
R-squared :	0.998792402	0.998792402	
Coefficient of determination :	0.983460636	0.983460636	
Correlation :	0.991784142	0.991784142	

Data Set Name:	Untitled38		
	Weighted		Unweighted
Sum of squared observations :	4.24568188E+10		4.24568188E+10
Sum of squared deviations :	51270780.8608		51270780.8608
Standard deviation of data :	2386.78726		2386.78726
R-squared :	0.998792402	0.998792402	
Coefficient of determination :	0.983460636	0.983460636	
Correlation :	0.991784142	0.991784142	
Model Selection Criterion :	3.73837569	3.73837569	

Confidence Intervals:

Parameter Name :	D_OVER_V		
Estimate Value =	90880.0973		
Standard Deviation =	1681.76893		
95% Range (Univar) =	87075.6716	94684.5229	
95% Range (S-Plane) =	85973.1954	95786.9991	

Parameter Name :	K_ELIM		
Estimate Value =	0.0903376784		
Standard Deviation =	0.00418561501		
95% Range (Univar) =	0.0808691595	0.0998061974	
95% Range (S-Plane) =	0.0781252979	0.102550059	

Variance-Covariance Matrix:

2828346.7399
5.48748082 1.75193730E-5

Correlation Matrix:

1.00000000

0.779556165 1.00000000

Residual Analysis:

The following are normalized parameters with an expected value of 0.0. Values are in units of standard deviations from the expected value.

The serial correlation is 1.49 which indicates a systematic non-random trend in the residuals.

Skewness is 1.58 indicating the likelihood of a few large positive residuals having an unduly large effect on the fit.

Kurtosis is 1.17 which is probably not significant.

The weighting factor was 0.00 leading to a heteroscedasticity of -2.44 which suggests an optimal weight factor for this fit of about -2.44

TRATAMIENTO 1 PROMEDIO CABALLOS

Model File Name : PKModel #1
Data File Name : Untitled44
Param File Name : Untitled46

Calculated Variable(s):

K_ELIM_HALF: 3.83722374
AUC: 6308.30672
AUMC: 34922.4306
RESIDENCE_TIME: 5.53594366
TRAPEZOIDAL_AUC: 6014.74898
AUC_TO_LAST_T: 5272.17888
AUMC_TO_LAST_T: 18825.2069
RESIDENCE_TIME_TO_LAST_T: 3.57066924
TRAPEZOIDAL_AUC_TO_LAST_T: 5285.29613

Goodness-of-fit statistics for data set: Untitled44

Data Column Name:	CONC	
	Weighted	Unweighted
Sum of squared observations :	4009037.9756	4009037.9756
Sum of squared deviations :	21658.3015	21658.3015
Standard deviation of data :	49.0558655	49.0558655
R-squared :	0.994597631	0.994597631
Coefficient of determination :	0.977205461	0.977205461
Correlation :	0.989105543	0.989105543

Data Set Name:	Untitled44	
	Weighted	Unweighted
Sum of squared observations :	4009037.9756	4009037.9756
Sum of squared deviations :	21658.3015	21658.3015
Standard deviation of data :	49.0558655	49.0558655
R-squared :	0.994597631	0.994597631
Coefficient of determination :	0.977205461	0.977205461

Correlation : 0.989105543 0.989105543
Model Selection Criterion : 3.41759793 3.41759793

Confidence Intervals:

Parameter Name : D_OVER_V
Estimate Value = 1139.51787
Standard Deviation = 41.1514992
95% Range (Univar) = 1046.42671 1232.60903
95% Range (S-Plane) = 1019.45003 1259.58571

Parameter Name : K_ELIM
Estimate Value = 0.180637677
Standard Deviation = 0.0113378283
95% Range (Univar) = 0.154989727 0.206285626
95% Range (S-Plane) = 0.147557263 0.213718090

Variance-Covariance Matrix:

1693.44589
0.341976012 0.000128546351

Correlation Matrix:

1.00000000
0.732959715 1.00000000

Residual Analysis:

The following are normalized parameters with an expected value of 0.0. Values are in units of standard deviations from the expected value.

The serial correlation is 1.88 which indicates a systematic non-random trend in the residuals.

Skewness is 0.66 which is probably not significant.

Kurtosis is -0.92 which is probably not significant.

The weighting factor was 0.00 leading to a heteroscedacticity of 0.00 which suggests an optimal weight factor for this fit of about 0.00

TRATAMIENTO 2 PROMEDIO CABALLOS

Model File Name : PKModel #1
Data File Name : Untitled50
Param File Name : Untitled53

Calculated Variable(s):

K_ELIM_HALF: 7.60092939
AUC: 949362.9088
AUMC: 10410545.7473
RESIDENCE_TIME: 10.9658231
TRAPEZOIDAL_AUC: 914288.8848
AUC_TO_LAST_T: 567955.9682

AUMC_TO_LAST_T: 2414035.2892
RESIDENCE_TIME_TO_LAST_T: 4.25039162
TRAPEZOIDAL_AUC_TO_LAST_T: 569757.3431

Goodness-of-fit statistics for data set: Untitled50

Data Column Name:	CONC	
	Weighted	Unweighted
Sum of squared observations :	3.82838741E+10	3.82838741E+10
Sum of squared deviations :	26728562.2960	26728562.2960
Standard deviation of data :	1723.32245	1723.32245
R-squared :	0.999301832	0.999301832
Coefficient of determination :	0.990452166	0.990452166
Correlation :	0.995252318	0.995252318

Data Set Name:	Untitled50	
	Weighted	Unweighted
Sum of squared observations :	3.82838741E+10	3.82838741E+10
Sum of squared deviations :	26728562.2960	26728562.2960
Standard deviation of data :	1723.32245	1723.32245
R-squared :	0.999301832	0.999301832
Coefficient of determination :	0.990452166	0.990452166
Correlation :	0.995252318	0.995252318
Model Selection Criterion :	4.28780459	4.28780459

Confidence Intervals:

Parameter Name :	D_OVER_V	
Estimate Value =	86574.7055	
Standard Deviation =	1216.40002	
95% Range (Univar) =	83823.0175	89326.3936
95% Range (S-Plane) =	83025.6118	90123.7993

Parameter Name :	K_ELIM	
Estimate Value =	0.0911924247	
Standard Deviation =	0.00318760425	
95% Range (Univar) =	0.0839815629	0.0984032864
95% Range (S-Plane) =	0.0818919429	0.100492906

Variance-Covariance Matrix:

1479629.0177	
3.02031240	1.01608208E-5

Correlation Matrix:

1.00000000	
0.778952632	1.00000000

Residual Analysis:

The following are normalized parameters with an expected value of 0.0. Values are in units of standard deviations from the expected value.

The serial correlation is 0.91 which is probably not significant.

Skewness is 1.93 indicating the likelihood of a few large positive residuals having an unduly large effect on the fit.

Kurtosis is 0.14 which is probably not significant.

The weighting factor was 0.00 leading to a heteroscedasticity of -1.78 which suggests an optimal weight factor for this fit of about -1.78