

11281

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina

25

ANÁLISIS DE LOS DIVERSOS ENFOQUES EN EL MODFLAJE
FARMACOCINÉTICO/FARMACODINÁMICO DE VARIOS
ANALGÉSICOS NO ESTEROIDALES. EFECTO DE LOS CAMBIOS
EN LA UNIÓN A PROTEÍNAS PLASMÁTICAS

TESIS

Que para optar por el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS BIOMÉDICAS (FARMACOLOGÍA) presenta:

JOSÉ TRINIDAD PÉREZ URIZAR

Director de Tesis

Dr. Francisco Javier Flores Murrieta

Comité Tutorial:

Dr. Francisco Javier Flores Murrieta

Dr. Gilberto Castañeda Hernández

Dr. Camilo Ríos Castañeda

México, D.F., Julio de 2001.



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.

*EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZÓ EN LAS INSTALACIONES DE LA SECCIÓN DE
TERAPÉUTICA EXPERIMENTAL DEL CINVESTAV-IPN, BAJO LA ASESORÍA DEL DR.
FRANCISCO JAVIER FLORES MURRIETA, Y CON APOYO DEL CONSEJO NACIONAL DE
CIENCIA Y TECNOLOGÍA, ASÍ COMO DE LA DIRECCIÓN GENERAL DE ESTUDIOS DE
POSTGRADO DE LA UNAM.*

“ Cuando es posible medir aquello de lo que uno habla y se es capaz de expresarlo en números, se sabe algo acerca de ello; pero cuando no se puede medir, cuando no es posible expresarlo con números, el conocimiento es pobre e insatisfactorio; puede ser el inicio del conocimiento, pero se habrá avanzado escasamente, en nuestra mente, en el estado de la ciencia”

Lord Kelvin

AGRADECIMIENTOS

A MIS PADRES, POR LA INFINITA FE QUE HAN VERTIDO SIEMPRE EN MI.

A MI PATY, POR APARECER EN MI CAMINO Y COMPARTIR EL SUYO PARA FORMAR UNO SOLO PLENO DE ESPERANZA.

A MIS HERMANOS Y TODOS LOS DEMAS MIEMBROS DE MI QUERIDA FAMILIA, PORQUE AÚN EN LA TEMPESTAD ESTÁN AHÍ, A MI LADO.

A MIS AMIGOS, A TODOS ELLOS, PORQUE NO HAY ESPACIO QUE CONTENGA LA LUZ DE SUS PALABRAS GENEROSAS CADA DIA, SIEMPRE.

AL DR. FRANCISCO J. FLORES MURRIETA, POR CONDUCIR ESTA NAVE A BUEN PUERTO, PERO SOBRE TODO POR SU AMISTAD.

AL DR. GILBERTO CASTAÑEDA HERNÁNDEZ, NO HAY MAS PALABRAS, CON ADMIRACIÓN Y RESPETO A MI MAESTRO, GRACIAS.

AL DR. CAMILO RÍOS CASTAÑEDA, POR SUS COMENTARIOS SIEMPRE ATINADOS QUE ENRIQUECIERON ESTE TRABAJO.

A TODOS LOS PROFESORES QUE CON SUS SUGERENCIAS PERO SOBRETUDO CON SU ALIENTO Y SABIDURÍA HAN TALLADO LA Roca.

AL LIC. HÉCTOR VÁZQUEZ, POR SU EXTRAORDINARIA COLABORACIÓN EN LA OBTENCIÓN DE LA INFORMACIÓN QUE SOPORTA ESTE TRABAJO.

AL INGENIERO MAYOR, EL QUE SABIAMENTE DISEÑÓ LA MARAVILLOSA MÁQUINA DE LA VIDA.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	iii
SUMMARY.....	vi
 INTRODUCCIÓN GENERAL	
El Modelaje Farmacocinético-Farmacodinámico	
Antecedentes	1
Modelos FC-FD.....	4
El modelo del compartimento del efecto.....	7
Modelos fisiológicos de respuestas indirectas.....	8
Inflamación	
Antecedentes	11
Inflamación Aguda	12
Antiinflamatorios no esteroideos	
Antecedentes	16
Ketorolac, naproxén y tolmetín	17
Relación farmacocinética-farmacodinámica de los antiinflamatorios no esteroideos	21
Alteración en la unión a proteínas de los AINEs	23
 JUSTIFICACIÓN	 25
 OBJETIVO GENERAL	 27
Objetivos particulares	27
 HIPÓTESIS GENERALES	 28
 CAPÍTULO I. EFICACIA ANALGÉSICA Y BIODISPONIBILIDAD DEL KETOROLAC EN PACIENTES CON DOLOR POSTOPERATORIO: UN ANÁLISIS PROBABILÍSTICO.	
 CAPÍTULO II. INFLUENCIA DEL GÉNERO EN LA FARMACOCINÉTICA Y LA FARMACODINAMIA DEL TOLMETÍN.	
 CAPÍTULO III. ANÁLISIS POBLACIONAL DE LA FARMACOCINÉTICA DEL TOLMETÍN EN RATAS.	

CAPÍTULO IV. INFLUENCIA DE LA HIPOALBUMINEMIA EXPERIMENTAL MODERADA SOBRE LA UNIÓN A PROTEÍNAS PLASMÁTICAS *In Vivo* DEL TOLMETÍN.

CAPÍTULO V. MODELAJE POBLACIONAL DE LA RELACIÓN ENTRE LA CONCENTRACIÓN Y EL EFECTO ANTIINFLAMATORIO DEL NAPROXÉN.

CAPÍTULO VI. ANÁLISIS POBLACIONAL DE LA INFLUENCIA DE LA HIPOALBUMINEMIA MODERADA SOBRE LA RELACIÓN FARMACOCINÉTICA/FARMACODINÁMICA DEL TOLMETÍN EN RATAS

DISCUSIÓN GENERAL

CONCLUSIONES

REFERENCIAS

LISTA DE PUBLICACIONES

RESUMEN

La información farmacocinética (FC) y farmacodinámica (FD) forma las bases científicas de la farmacoterapia moderna. La farmacocinética describe los cursos temporales de la concentración de fármaco en los fluidos del cuerpo, resultantes de la administración de una cierta dosis de un fármaco, mientras que la farmacodinamia el efecto observado resultante de una cierta concentración del fármaco. La racionalización del modelaje FC-FD es vincular ambas disciplinas con el fin de establecer y evaluar la relación dosis-concentración-respuesta y, subsecuentemente describir y predecir los cursos temporales del efecto resultantes de una dosis del fármaco. Ahora bien, bajo condiciones farmacocinéticas al estado estacionario, la relación concentración-efecto puede ser descrita por diversos modelos farmacodinámicos relativamente simples, que incluyen el modelo del efecto máximo y el modelo sigmoideal del efecto máximo. Sin embargo, cuando las condiciones no son de estado estacionario, se requieren modelos FC-FD integrados mas complejos para vincular y cuantificar la posible disociación entre la concentración y el efecto observado. La elección de un tipo de modelo o aún la forma de abordar este, depende del objetivo del estudio, de las variables implicadas, así como de las herramientas de análisis de datos con que se cuenta.

En esta tesis nos planteamos como objetivo general evaluar de manera extensa y cuantitativa, los distintos abordajes que permiten establecer la relación entre la concentración de varios analgésicos no esteroideos y su respuesta farmacológica, tanto en el plano clínico (ketorolac), como en modelos experimentales en ratas (tolmetín y naproxén). Los distintos enfoques de análisis cubren desde los modelos probabilísticos para determinar la conveniencia de una dosis de ketorolac en pacientes con dolor postoperatorio, hasta los modelos FC-FD poblacionales de respuestas fisiológicas indirectas para explicar el efecto antiinflamatorio del naproxén y del tolmetín en ratas. Adicionalmente, se evaluó la influencia de los cambios en los parámetros farmacocinéticos, en particular la contribución de la unión a proteínas plasmáticas, sobre la potencia y el curso temporal del efecto antiinflamatorio del tolmetin.

Para cumplir los planteamientos anteriores, inicialmente se exploró la posible relación entre la farmacocinética del ketorac y su efecto analgésico en pacientes con dolor postoperatorio severo (Capítulo I). Sin embargo, se encontró que existe un retardo considerable entre la aparición del efecto y las concentraciones plasmáticas del fármaco. Aunque existía la posibilidad de modelar tal retraso como una diferencia de velocidades de distribución hacia el sitio de acción, el diseño experimental así como el tipo subjetivo de mediciones del dolor podrían conducir a conclusiones erróneas. Por ello se prefirió emplear un modelo de logístico que caracterizaba el curso temporal de diferentes niveles de alivio del dolor. Este modelo permitió concluir que la dosis de 30 mg por vía intramucular de ketorolac es suficiente para obtener un buen alivio del dolor en un plazo no menor a una hora. Además, el modelo predice que no habría beneficio adicional en caso de incrementar la dosis o de administrar una segunda dosis antes del plazo antes mencionado. Si en cambio se incrementaría el riesgo de reacciones adversas.

Aunque en el estudio anterior se obtuvieron conclusiones interesantes acerca del mejor esquema de dosificación, los modelos empleados no tienen un fundamento biológico, sino estadístico. Por ello, se plantearon otros protocolos que permitieran describir desde un punto de vista más fisiológico la relación existente entre la concentración y el efecto, en este caso antiinflamatorio, de otros dos AINEs, el naproxén y el tolmetín, así como la influencia de una variable fisiopatológica, la hipoalbuminemia, sobre las características FC y FD particularmente del tolmetín.

Con lo anterior en mente, se buscó contar con una población de estudio representativa del fenómeno fisiopatológico de interés, pero sin complicar de manera inútil el análisis. En ese sentido, se demostró que existen diferencias significativas en la biodisponibilidad del tolmetín debidas al género, lo cual probablemente se deban a la actividad disminuida en los sistemas metabolizadores de las hembras comparadas con los machos (Capítulo II). Como resultado, el área bajo la curva de las hembras es 75% mayor a la de los machos. Entonces, dado que no se puede tratar a ambos géneros como uno mismo, se eligió trabajar con ratas macho en los protocolos subsecuentes.

Posteriormente, y para poder evaluar el impacto de los cambios en la unión a proteínas se implementó un modelo experimental (plasmaféresis), relativamente inocuo para inducir un estado de hipoalbuminemia moderada. Así, en el capítulo IV se demostró que la disminución significativa en la concentración de albúmina después de la PLF (hipoalbuminemia moderada) se tradujo en cambios, no solo en el grado de unión (la unión se volvió dependiente de la concentración), sino también en la afinidad de la albúmina por el tolmetín (la constante de asociación disminuyó seis veces su valor).

Por otra parte, en el capítulo III se demostró que la alteración en la unión a las proteínas plasmáticas del tolmetín, durante un proceso de hipoalbuminemia moderada no influye sobre la farmacocinética del AINE. En todo caso, el aumento de la fracción libre confirma la existencia de saturación en el mecanismo de eliminación del tolmetín, por lo que su farmacocinética puede explicarse en términos de un modelo abierto de absorción de primer orden y eliminación tipo Michaelis-Menten.

En el capítulo V, se muestra cómo el acoplamiento del enfoque poblacional de efectos mixtos a un modelo FC-FD de respuestas fisiológicas indirectas, describe adecuadamente que el efecto antiinflamatorio del naproxén está modulado por su farmacocinética. El modelo desarrollado asume la existencia de un compartimento donde se sintetizan y liberan los mediadores de la inflamación durante un período de tiempo limitado, y que es el blanco del fármaco.

Finalmente, en el capítulo VI, se probó que el modelo FC-FD desarrollado para el naproxén puede ser considerado como de aplicación general para la actividad antiinflamatoria de otros AINEs, ya que con algunos ajustes pudo describir el impacto de la hipoalbuminemia sobre la inflamación y el efecto antiinflamatorio del tolmetín. De hecho, en este caso el enfoque poblacional del modelo FC-FD demostró que la concentración de albúmina es una covariable predictiva de la constante de velocidad (K_e) y el tiempo de síntesis (T_{in}) de los mediadores de la inflamación. Además, se demostró que la hipoalbuminemia moderada, modifica la respuesta inflamatoria normal y la potencia del fármaco, pero no su efecto máximo.

SUMMARY

Pharmacokinetic (PK) and pharmacodynamic (PD) information forms the scientific basis of the modern pharmacotherapy. Pharmacokinetics describes the time-course of drug levels in different body fluids following the administration of a certain dose of the drug. In turns pharmacodynamics describes the observed effects resulted from the drug concentration at the biophase. Presently, pharmacokinetic-pharmacodynamic (PK-PD) modelling has emerged as a major tool in clinical pharmacology, in order to optimize drug use by designing rational dosage forms and dosage regimes. Quantitative representation of the dose-concentration-response relationship should provide information for prediction of the level of response to a certain level of drug dose. Several mathematical approaches can be used to describe such relationships, depending on the single dose or steady-state measurements carried-out. With concentration and response data on-phase, basic models such as Emax and sigmoid Emax can be sufficient. However, time-variant pharmacodynamic models (effect compartment, acute tolerance, sensitization and indirect responses) can be required when kinetics and response are out-of-phase. At date, methodologies available for PK-PD analysis suppose hardly use of powerful computing resources. Some of these algorithms are able to generate individual estimates of parameters based upon population analysis and Bayesian forecasting. Notwithstanding, attention must be paid to avoid over-interpret data from mathematical models, so that reliability and clinical significance of estimated parameters will be valuable when underlying physiological processes (disease, age, gender, etc) are considered.

In this thesis, we have aimed to extensively and quantitatively evaluate several approaches that permit the establishment of PK-PD relationships for some non-steroidal analgesic agents (NSAIDs), not only at the clinic setting (ketorolac) but also in an experimental model (tolmetin and naproxen). Different approaches include probability models for testing the reliability of a single dose of ketorolac for the treatment of severe postoperative pain, as well as integrated population PK-PD models of physiological indirect responses to explain the anti-inflammatory effect of naproxen and tolmetin. In addition, the influence of changes in PK

parameters, particularly in protein-binding, on the potency and time-course of pharmacological response was evaluated.

Initially, the relationship between the PK of ketorolac and its analgesic effect in patients with severe postoperative pain was evaluated (Chapter I). However a pronounced delay of the analgesic response with regard to plasma levels was found. Although such delay might be modeled using an approach that supposes a difference in the drug distribution rate from plasma to the effect compartment, experimental design as well as subjective measurement of pain could have produced misleading conclusions. Thus a logistic model characterizing the time-course of different predetermined levels of pain relief was developed. This model permitted to conclude that a 30 mg i.m. dose of ketorolac is sufficient to produce a good pain relief in less than an hour. Also this model predicted that no additional benefit could be gained with higher doses or with remedication before the first hour, in turns adverse reactions associated with high plasma levels could be expected.

Notwithstanding the interesting conclusions obtained regarding the best dosing scheme, the developed model for the analgesic efficacy of ketorolac does not have a biological background, but statistical. Therefore, different protocols were designed to describe from a more physiologic point of view the relationship between plasma levels and the anti-inflammatory effect of other two NSAIDs, namely naproxen and tolmetin. Particularly with tolmetin, the influence of a physiopathological variable, the hypoalbuminemia, on the PK and PD characteristics of the drug was also evaluated.

Keeping last in mind, we looked for a study population representative of the interested physiopathological phenomenon but without useless experimental complications. In that sense, it was demonstrated the appearance of gender-related differences in the bioavailability of tolmetin in the rat. The explanation for such changes may be related to a diminished activity in metabolism in females in comparison with males (Chapter II). As a consequence the area

under the curve of females is about 75% superior to males. Because of these differences we chose to use males in the subsequent experimental protocols.

Following in order to evaluate the impact of changes in drug protein-binding, an experimental model (plasmapheresis) was implemented to induce moderate hypoalbuminemia in rats. In the Chapter IV it was shown that a significant decrease in albumin levels translated into a concentration-limited binding of tolmetin to plasma proteins. Moreover, it appeared that the affinity of albumin for tolmetin also decreased (the association rate constant diminished by six-fold).

On the other hand, these alterations in protein-binding of tolmetin did not rendered modifications on the PK of the NSAID (Chapter III). In any case, the increase in free fraction just confirmed the saturation in the disposition mechanism of tolmetin, therefore its PK could be explained in terms of population model with first-order absorption and a Michaelis-Menten-like elimination.

In the Chapter V it was demonstrated how the link between the population approach and PK-PD modelling of indirect responses adequately describes natural evolution of inflammation as well as the modulation of the anti-inflammatory effect of tolmetin by its pharmacokinetics in rats. The model assumed the existence of a compartment where inflammatory mediators are synthesized and released by a limited time. This compartment is the target of the inhibitory activity of the NSAID.

Finally, in Chapter VI it was proven that the PK-PD model developed for naproxen may be generalized not only to describe the anti-inflammatory responses of other NSAIDs, but also it was able, with some modifications, to describe the influence of the hypoalbuminemia on the inflammation and the anti-inflammatory effect of tolmetin. In fact, in this case the population approach of PK-PD modelling demonstrated that the albumin level is a predictive covariable of the rate constant (K_c) and the time of synthesis ($T_{S,n}$) of inflammatory mediators. In

addition, the PK-PD modelling showed that moderate hypoalbuminemia decrease modified the natural evolution of inflammation as well as the potency of tolmetin, but not its maximal effect.

INTRODUCCIÓN GENERAL

EL MODELAJE FARMACOCINÉTICO-FARMACODINÁMICO

ANTECEDENTES

La farmacocinética (FC) se define como la ciencia dedicada al estudio de los procesos de absorción, distribución, metabolismo y excreción de los fármacos, así como de los múltiples factores que pueden modificarlos [Aarons, 1997]. Una consecuencia del extenso desarrollo en la investigación farmacocinética es el reconocimiento de la elevada variabilidad en los procesos, debida a factores genéticos, ambientales, y fisiopatológicos. En ausencia relativa de información que indique lo contrario, se asume que esa variabilidad farmacocinética es primariamente responsable de las diferencias interindividuales observadas en las respuestas a los fármacos.

Ahora bien, la eficacia del fármaco no depende de la concentración total que circule sistémicamente, sino de la concentración libre presente en el sitio activo, sea sobre un receptor, una enzima, etc. Sin embargo, esos mismos sistemas efectores pueden estar involucrados no solo en el efecto terapéutico deseado sino también en la toxicidad del compuesto cuando su estado es alterado. De lo anterior se intuye que para la mayoría de los fármacos empleados en la práctica clínica, existe una diferencia cuantitativa entre la concentración necesaria para la actividad terapéutica y la concentración máxima tolerable por razones de seguridad (Figura 1).

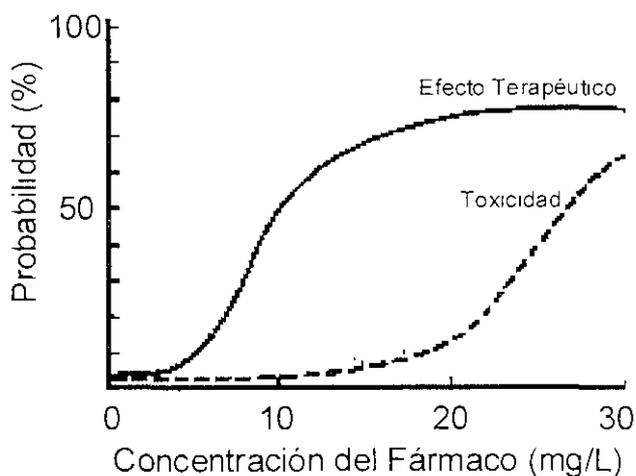


Figura 1. Relación entre la concentración y los efectos para los fármacos en uso.

Por lo tanto, se ha definido a la farmacodinamia (FD) como la relación cuantitativa entre la concentración (observada) en plasma o tejido de la porción activa de un fármaco y la magnitud del efecto (observado) [Venitz, 1995].

El modelaje FC-FD es la descripción matemática de las relaciones entre la FC y la FD. El modelaje FC-FD permite la estimación de parámetros farmacodinámicos, los que a su vez permiten la predicción del inicio, magnitud y duración del efecto bajo diferentes esquemas de dosificación; esta información puede entonces ser de gran valor en la optimización de la terapéutica [Venitz, 1995].

Recientemente se ha venido reconociendo la importancia de los estudios FC-FD en todas las fases del desarrollo de fármacos [Van Peer *et al*, 1993; Steimer *et al*, 1993; Lieberman y McMichael, 1996]. En el caso de los estudios preclínicos, el modelaje FC-FD se emplea para interpretar información toxicocinética, vía el modelaje fisiológico, puede emplearse en la interpretación de mecanismos de acción subyacentes a una actividad farmacológica y, a través del escalamiento alométrico también puede emplearse en la extrapolación de resultados de animales a humanos [el-Masri *et al*, 1995; van Schaick *et al*, 1997; Boxenbaum y Dilea, 1995]. Durante las etapas clínicas iniciales el modelaje FC-FD auxilia en la interpretación de los estudios dosis-respuesta y de escalamiento de dosis. Eventualmente, las agencias regulatorias también han empleado el modelaje FC-FD para recomendar una dosis o régimen de dosificación que originalmente no había sido estudiado [Gabrielsson y Weiner, 1999].

Con el fin de elegir el modelo FC-FD mas apropiado, es esencial identificar el o los procesos biológicos que están implicados en el desencadenamiento de una respuesta inducida por un fármaco. Eventualmente los procesos FC, la distribución a la biofase, la interacción fármaco-receptor, la transducción de señales y los eventos post-receptor son factores que alteran el comportamiento farmacodinámico de un compuesto. Cuando es posible contar con la información anterior, aunque sea parcialmente, es posible vincular la FC y la FD con un soporte fisiológico real en vez de solo números y ecuaciones abstractas.

Meibohm y Derendorf [1997] han sugerido que se pueden emplear cuatro atributos para elegir y caracterizar de la mejor manera los modelos FC-FD:

- a) El vínculo entre la concentración medida y el mecanismo de respuesta farmacológica que media el efecto observado, es decir, una relación directa (el curso temporal del efecto es paralelo al de la concentración), o una indirecta (la aparición de una asa de histéresis en la representación gráfica

de la relación concentración-efecto, denota el retraso en la aparición del efecto respecto a la concentración).

- b) El mecanismo de respuesta que media el efecto observado, es decir una respuesta directa (el efecto medido es resultante a la interacción del fármaco con una estructura de respuesta - receptor, enzima, etc - en el sitio de acción), o bien indirecta (existe un factor fisiológico, el cual gobierna el efecto observado, que puede ser modulado).
- c) La información usada para establecer el vínculo entre la concentración medida y el efecto observado, ajustes no-estrictos (la información tanto FC como de la respuesta medida se emplea para caracterizar el modelo) o estrictos (la información FD no se emplea por si misma, sino que el modelo FC-FD se caracteriza a partir solo de la información FC y de datos *in vitro* del fármaco).
- d) La dependencia con el tiempo que puedan tener los parámetros farmacodinámicos, es decir tiempo-invariantes (cuando los parámetros del modelo no cambian en el tiempo) *vs* tiempo variantes (cuando se pretende caracterizar fenómenos de tolerancia o desensibilización).

Además de la importancia que por si misma tendría la caracterización de la relación FC-FD en el establecimiento del régimen de administración mas adecuado, también es útil en el entendimiento de los mecanismos de acción que realmente subyacen a la actividad de un fármaco.

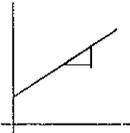
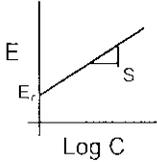
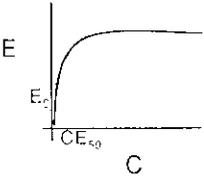
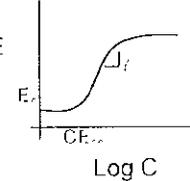
Posterior a la construcción del modelo básico, deben considerarse las posibles diferencias biológicas que usualmente se traducen en variabilidad intra- e interindividual. De cara a la variabilidad FD, suele ser importante identificar factores que caracterizan a una determinada población, es decir ciertas covariables (tal como la edad, género, características fisiopatológicas, etc). La incorporación adecuada de esas covariables en los modelos FC-FD, a través de la llamada aproximación poblacional de efectos mixtos, permite una mejor interpretación de la variabilidad.

Este enfoque permite la caracterización de parámetros promedio para una población, así como la varianza del error residual, lo que representa los estimados *a priori* para cada individuo, que a su vez pueden ser refinados a través del análisis Bayesiano. De esta manera, sería posible la minimización de la función objetivo, que representa el mejor ajuste a la terapia que requiere un individuo en particular [Levi, 1998; Peck *et al.*, 1992].

MODELOS FC-FD

Se han propuesto diferentes modelos para describir la relación FC-FD dependiendo de la naturaleza del esquema de administración del fármaco (dosis única, dosis múltiples, infusiones largas, etc). Así, cuando el sistema se encuentra cinéticamente en un estado estacionario; esto es, cuando las concentraciones en el sitio de acción son constantes (infusiones largas o dosis múltiples), se requieren modelos relativamente simples para caracterizar la relación FC-FD (Cuadro 1).

Los modelos anteriores son también llamados FC-FD de Respuestas Directas, ya que se caracterizan por una correlación directa entre la concentración del fármaco en el sitio de acción y el efecto observado, sin retraso en el tiempo. Esto es, se asume que cualquier proceso de distribución desde el sitio de muestreo hacia el sitio de acción, mediando cualquier respuesta intermedia, es suficientemente rápido para no influir sobre la correlación. Bajo estas condiciones, la concentración de fármaco es directamente proporcional a la dosis administrada y la gráfica, efecto en función de la concentración ($E-C$), tiene la misma forma que las curvas dosis-respuesta.

Modelos FC-FD Básicos	Función Básica	Ejemplos	Referencias
Lineal 	$E = S \cdot C + E_0$ Donde E: Efecto medido S: Efecto inducido por unidad de C. C: Concentración E ₀ : Efecto basal (en ausencia de fármaco)	<ul style="list-style-type: none"> - Actividad central del diazepam. 	[55]
Log-Lineal 	$E = S \log C + E_0$ Donde E: Efecto medido S: Efecto inducido por unidad de C. C: Log de la Concentración E ₀ : Efecto basal (en ausencia de fármaco)	<ul style="list-style-type: none"> - Beta-bloqueadores. 	[190]
Emax 	$E = \frac{E_{MAX} \cdot C}{EC_{50} + C} + E_0$ E: Efecto medido E _{MAX} : Máximo efecto posible C: Concentración EC ₅₀ : Conc. necesaria para obtener 50% del E _{MAX} E ₀ : Efecto basal (en ausencia de fármaco)	<ul style="list-style-type: none"> - Azimiltida - Oxido Nítrico - Clevidipina 	[28, 47, 118]
Sigmoidal Emax 	$E = \frac{E_{MAX} \cdot C^f}{EC'_{50} + C^f} + E_0$ Donde E: Efecto medido E _{MAX} : Máximo efecto posible C: Concentración EC' ₅₀ : Conc. necesaria para obtener 50% del E _{MAX} E ₀ : Efecto basal (en ausencia de fármaco) f: Factor de sigmoidicidad de la curva C-F	<ul style="list-style-type: none"> - Ketorolac - Paracetamol - Ibuprofen - Verapamil 	[20, 66, 68, 72]

Cuadro 1. Modelos FC-FD básicos

Sin embargo, cuando las condiciones no son de estado estacionario, se requieren modelos FC-FD integrados mas complejos para vincular y cuantificar la posible disociación entre la concentración y el efecto observado. Bajo estas condiciones, cuando los datos E-C son representados en orden cronológico, la gráfica resultante es una curva de histéresis *anti-horaria* (Figura 2).

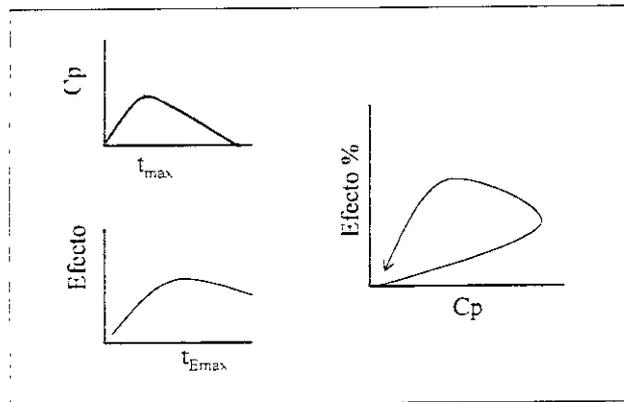


Figura 2. Formación del asa de histéresis antihoraria en las relaciones FC-FD indirectas.

Lo anterior significa que la cinética del efecto se encuentra retrasada respecto a la cinética de las concentraciones. Por tanto, de manera general este tipo de relación entre la FC y la FD se denomina Indirecta y puede revelar diferentes situaciones:

- 1) Un sitio de acción difícilmente accesible (el retraso expresa la velocidad de equilibrio entre el plasma y el sitio de acción).
- 2) La transformación de un pro-fármaco en un metabolito activo (el retraso representa la velocidad de producción del metabolito).
- 3) Un mecanismo de acción indirecto.

Alternativamente, la gráfica E-C puede mostrar una histéresis *horaria* (o protéresis) es decir, el efecto disminuye mas rápidamente que las concentraciones. Esto puede revelar el desarrollo de tolerancia al fármaco sea por fenómenos homeostáticos o por desensibilización de receptores [Bauer *et al*, 1997; Lima *et al*, 1989; Ragueneau *et al*, 1998; Mandema y Wada, 1995; Castañeda-Hernández *et al*, 1994].

Cuando la histéresis es antihoraria, se han propuesto diferentes estrategias para analizar la información. Si la distribución hacia la biofase es el factor limitante, puede proponerse una cinética de compartimento efector para explicar el desequilibrio entre concentración y efecto [Sheiner *et al*, 1979]. Por otra parte, un mecanismo acción indirecto, v.gr. la inhibición o la estimulación de la síntesis o la degradación de productos endógenos que median una respuesta, también puede llegar a ser el factor limitante de velocidad y se traduce en una histéresis antihoraria [Dayneka *et al*, 1993; Jusko y Ko, 1994].

El Modelo del Compartimento del Efecto

Un importante avance conceptual para establecer indirectamente el vínculo entre FC y FD ha sido la postulación de que el curso temporal del efecto por si mismo puede emplearse para definir la velocidad de movimiento del fármaco hacia el sitio de acción, tal como se propone en el modelo del compartimento efector propuesto por Sheiner [1979]. Este concepto considera un compartimento efector hipotético que puede modelarse como un compartimento adicional a la FC y representa la concentración en el sitio de acción. Este compartimento se vincula con la cinética a través de un proceso de primer orden, aunque se asume que recibe una cantidad de masa despreciable.

En consecuencia, los aspectos dependientes del tiempo del equilibrio entre la concentración plasmática y el efecto pueden caracterizarse solo con una constante de velocidad denominada k_{ec} . Esta constante describe entonces, la desaparición irreversible del fármaco desde el compartimento del efecto (Figura 3).

Matemáticamente la relación anterior puede definirse a través de la siguiente ecuación diferencial:

$$dC_e/dt = k_{ec} (C_p - C_e)$$

donde C_p y C_e representan las concentraciones en plasma y compartimento efector, respectivamente. Aunque se han propuesto diversas metodologías [Fusseau y Sheiner, 1984; Unadkat *et al*, 1986; Veng-Pedersen y Modi, 1992] para estimar la k_{ec} , la regresión no-lineal paramétrica parece ser el enfoque más empleado.

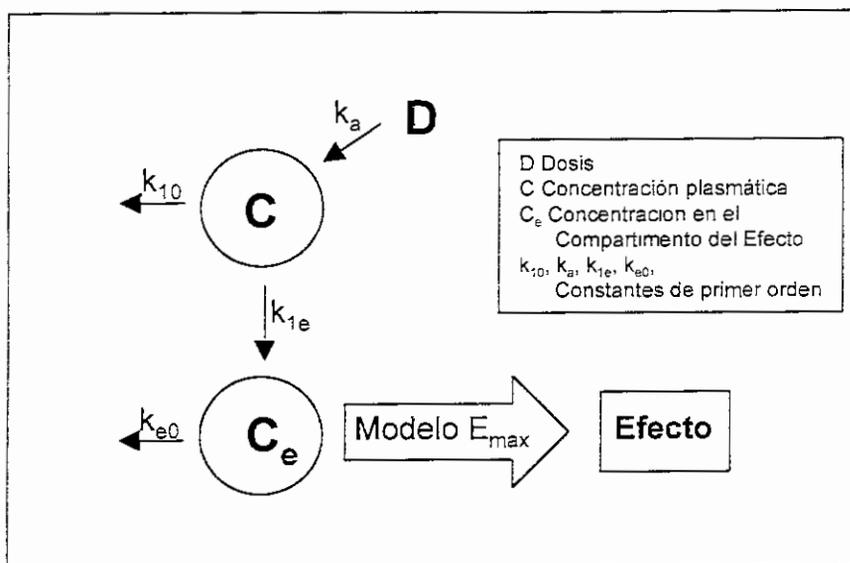


Figura 3. Representación esquemática de modelo del compartimento del efecto.

En esta estrategia se propone inicialmente el mejor modelo FC y los parámetros obtenidos de este, junto con los datos FD, se emplean para alimentar el modelo FC-FD integrado que permite caracterizar la k_{ec} y los parámetros FD por medio de un proceso iterativo. Este enfoque ha sido empleado exitosamente para predecir la relación FC-FD de una amplia variedad de fármacos [Sheiner *et al.*, 1979; Martín del Campo *et al.*, 1997; Torres-Lopez *et al.*, 1997; Della Pschoa *et al.*, 1998; Garrido *et al.*, 1999].

Modelos Fisiológicos de Respuestas Indirectas

Aunque el modelo del compartimento efector permite explicar el retraso en la aparición del efecto respecto a la concentración cuando hay factores que supongan problemas de distribución del fármaco, este enfoque considera que tal retraso pueda estar relacionado con otras causas. Así, muchas respuestas a un fármaco pueden ser consideradas de naturaleza indirecta. Es decir, después de la administración del fármaco hay una lenta generación de la respuesta, la cual está gobernada por la inhibición o la estimulación de factores que controlan esta respuesta [Dayneka *et al.*, 1993;

Nagashima *et al*, 1969]. Adicionalmente, cuando la respuesta a un fármaco es por naturaleza indirecta, el ajuste de los datos con modelos FC-FD basado en el compartimento efector, produce “parámetros” dependientes de la dosis, lo cual no es biológicamente posible.

Jusko y Ko [1994] propusieron una familia de respuestas farmacodinámicas indirectas. Estos modelos se basan en los efectos de los fármacos (inhibiciones o estimulaciones de un sistema), sobre los factores que controlan la aparición o la desaparición de la respuesta al mismo. Las respuestas así generadas muestran un inicio de efecto y retorno a la basal lentos. Por otra parte, el tiempo para alcanzar el efecto máximo ($\tau_{E_{max}}$), depende del modelo y de la dosis; mientras que el tiempo para alcanzar el estado estacionario FD dependerá de si el fármaco actúa como inhibidor o como estimulador. Si el fármaco desencadena un efecto sobre la desaparición del efecto (*rate out*) entonces el tiempo al estado estacionario FD y el $\tau_{E_{max}}$ estarán determinados solo por el fármaco. Si el fármaco actúa sobre el comienzo (*rate in*), será el nivel de la respuesta lo que sea afectado. En cualquier caso, la aparición de curvas de histéresis demuestran que la concentración precede a la respuesta [Dayneka *et al*, 1993; Jusko y Ko, 1994].

Tomando en consideración la información anterior, es posible describir la velocidad de cambio de la respuesta (dR/dt) en ausencia del fármaco, a través de la siguiente ecuación diferencial:

$$dR/dt = k_{in} - k_{out} \cdot R$$

donde k_{in} representa la constante de orden cero para la producción de la respuesta y k_{out} es la constante de primer orden para la pérdida de la respuesta.

Dependiendo de si k_{in} o k_{out} son inhibidas o estimuladas por el fármaco, son 4 los modelos básicos propuestos por Jusko y Ko [1994]. Las ecuaciones diferenciales que caracterizan estos modelos son:

$$dR/dt = k_{in} \cdot I(t) - k_{out} \cdot R \quad \text{para la inhibición de } k_{in} \quad \text{Ec. 1}$$

$$dR/dt = k_{in} - k_{out} \cdot I(t) \cdot R \quad \text{para la inhibición de } k_{out} \quad \text{Ec. 2}$$

$$dR/dt = k_{in} \cdot S(t) - k_{out} \cdot R \quad \text{para la estimulación de } k_{in} \quad \text{Ec. 3}$$

$$dR/dt = k_{in} - k_{out} \cdot S(t) \cdot R \quad \text{para la estimulación de } k_{out} \quad \text{Ec. 4}$$

Considerando que $I(t)$ y $S(t)$ son funciones inhibitorias y estimulatorias, respectivamente, las cuales pueden describirse en función de:

$$I(t) = 1 - \frac{C(t)}{IC_{50} + C(t)} \qquad S(t) = 1 - \frac{E_{MAX} \cdot C(t)}{EC_{50} + C(t)}$$

Donde IC_{50} y EC_{50} son las concentraciones que generan el 50% de la inhibición o el efecto máximo (E_{MAX}), respectivamente. Estos modelos de respuestas fisiológicas indirectas se han empleado para describir una gran variedad de efectos tales como la relajación muscular, síntesis, secreción y flujo de mediadores, tráfico celular, inducción o inactivación enzimática, entre otros [Jusko y Ko, 1994; Garg y Jusko, 1994; Flores-Murrieta *et al*, 1998].

Por lo mencionado antes, además de la importancia que por si misma tendría la caracterización de la relación FC-FD en el establecimiento del régimen de administración mas adecuado, también es útil en el entendimiento de los mecanismos de acción que realmente subyacen a la actividad de un fármaco. Es decir, si el mecanismo de acción es conocido, al menos parcialmente, el modelaje FC-FD basado en respuestas fisiológicas indirectas debería ser la primera opción para analizar la relación entre concentración y efectos de un fármaco. Por tanto, este enfoque permite pasar de la abstracción de los números a una herramienta basada en un mecanismo fisiológico. Además, como se mencionó anteriormente, si las mediciones tanto farmacocinéticas como farmacodinámicas incluyen un elevado grado de variabilidad intra- e inter-individual, su análisis correcto debería implicar el enfoque poblacional de efectos mixtos [Perez-Urizar *et al*, 2000].

INFLAMACIÓN

ANTECEDENTES

La inflamación es la reacción del tejido vivo vascularizado a una agresión local, que conduce al acúmulo de líquido y células sanguíneas. La inflamación es una respuesta fisiopatológica fundamental diseñada para eliminar los estímulos nocivos introducidos en el huésped, que incluyen agentes químicos (toxinas y sustancias caústicas), patógenos y endógenos (como aquellos producidos por el sistema inmune), así como para reparar las lesiones, radiaciones y quemaduras, entre otros. La respuesta inflamatoria se encuentra estrechamente relacionada con el proceso de reparación. La inflamación destruye, diluye o aísla al agente lesivo y pone en marcha una serie de acontecimientos que, hasta donde es posible, reparan y reconstruyen el tejido lesionado. Sin embargo, la inflamación y la consecuente reparación pueden ser potencialmente perjudiciales ya que comprende una serie de respuestas como la fagocitosis del agente lesivo, la captura del agente extraño por células especializadas y la neutralización del agente nocivo mediante la hipertrofia de la célula o sus organelos. Los signos clínicos clásicos que caracterizan a la inflamación son calor, enrojecimiento, hinchazón, dolor y pérdida de la función [Robbins *et al.*, 1990].

La inflamación se divide en aguda y crónica en función de su duración, y por lo general conduce – al igual que el dolor – a una pérdida de la funcionalidad de la parte afectada [Robbins *et al.*, 1990; Smith y Reynard, 1992]. La inflamación aguda tiene una duración relativamente corta, que va desde unos minutos, hasta varias horas o días y sus principales características son la exudación de líquido y proteínas plasmáticas (edema) y la migración leucocitaria, predominantemente de neutrófilos. Por otra parte, la inflamación crónica es menos uniforme y obviamente, de mayor duración. Se asocia histológicamente a la presencia de linfocitos y macrófagos y a la proliferación de vasos sanguíneos y tejido conectivo. Muchas de las respuestas celulares de la inflamación están mediadas por factores químicos derivados de la acción del estímulo inflamatorio sobre el plasma o las células que actúan conjunta o secuencialmente (Figura 4, [Smith y Reynard, 1992; Bendtzen *et al.*, 1998]).

El campo de la respuesta inflamatoria es el tejido conectivo vascularizado, incluyendo el plasma, las células circulantes, los vasos sanguíneos y los componentes celulares y extracelulares del tejido conectivo. Las células circulantes que tienen importancia en la inflamación son los neutrófilos, monocitos, eosinófilos, linfocitos, basófilos y plaquetas. Las células del tejido conectivo son las

células cebadas, que están en íntima relación con los vasos sanguíneos, los fibroblastos, linfocitos y macrófagos del mismo.

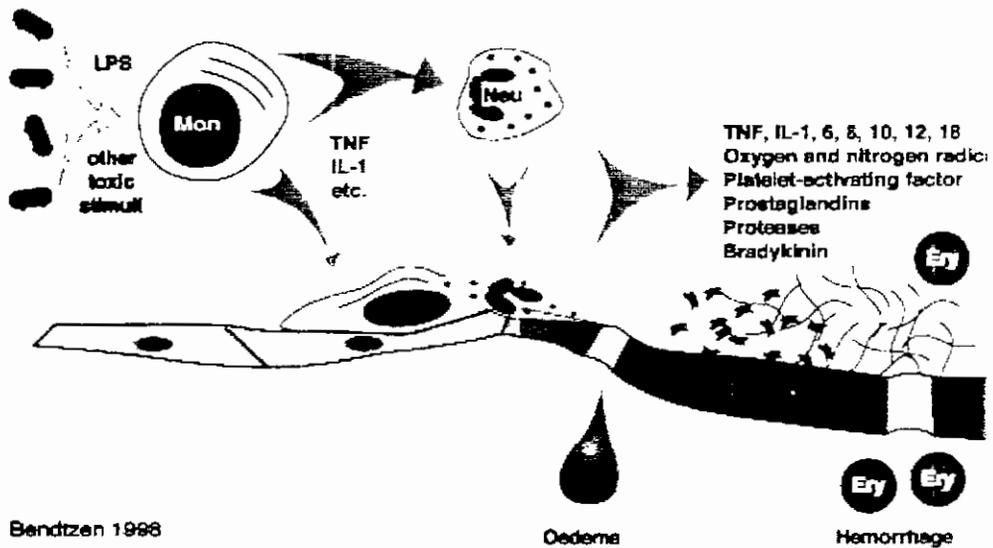


Figura 4. Representación de la cascada de eventos y mediadores liberados en la respuesta inflamatoria aguda.

INFLAMACIÓN AGUDA

El edema es una reacción inmediata o transitoria en la inflamación aguda, que suele comenzar inmediatamente después del estímulo lesivo, alcanza un máximo 5-10 minutos después y puede desaparecer en 15-30 minutos, si no existe otro estímulo o si no se desencadenan otros mecanismos. Esta reacción se caracteriza por 1) cambios de flujo y calibre vascular; 2) cambios de la permeabilidad vascular; y 3) exudación leucocitaria. La respuesta inflamatoria es mediada inicialmente por la histamina y posteriormente por una gran variedad de mediadores químicos que son activados en fases consecutivas (Figura 5 [Robbins *et al.*, 1990; Bendtzzen *et al.*, 1998]).

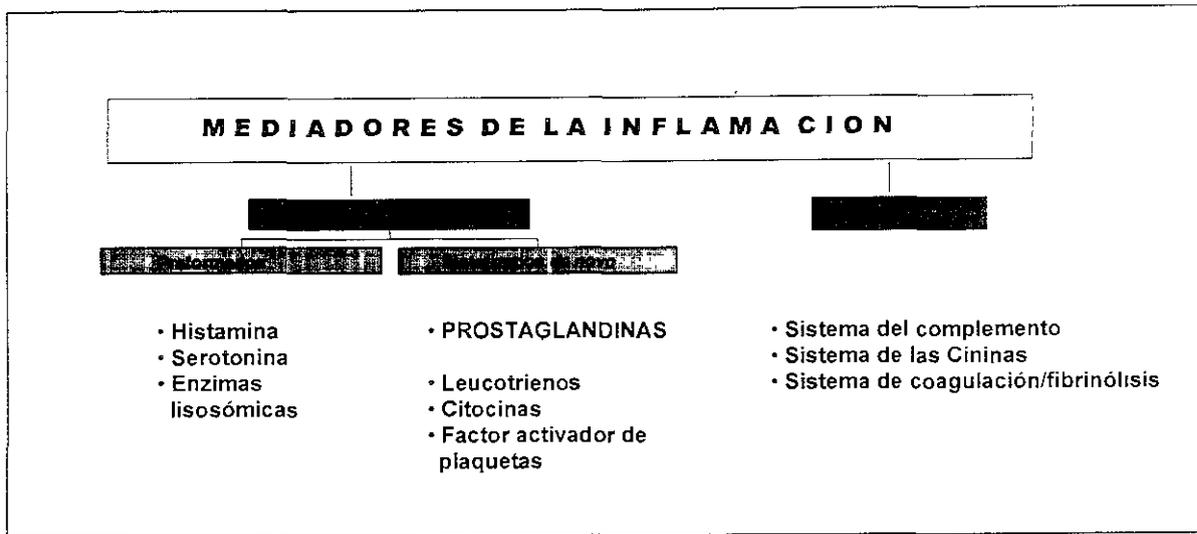


Figura 5. Mediadores químicos en la inflamación.

La histamina y la serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT), son los mediadores químicos de la fase activa inmediata al incremento de la permeabilidad. En el hombre y en ciertos roedores, la histamina y la serotonina son producidas y almacenadas en los gránulos de las células cebadas, basófilos y plaquetas. Estas aminas producen vasodilatación e incremento de la permeabilidad vascular, especialmente en las vénulas. Muchos agentes producen la liberación de estas aminas a partir de las células cebadas: los agentes físicos, las reacciones inmunes, los fragmentos del complemento C3a y C5a (también llamadas anafilotoxinas) y los factores liberadores de la histamina, presentes en neutrófilos, monocitos y plaquetas, así como la interleucina-1. La concentración de histamina disminuye luego de los primeros 60 minutos del estímulo y los antihistamínicos no tienen efecto sobre la permeabilidad vascular en las fases retardadas, ni sobre la acumulación de leucocitos en el tejido inflamado [Smith y Reynard, 1992; Bendtzen *et al*, 1998].

La migración de leucocitos – principalmente macrófagos y neutrófilos – es uno de los rasgos más importante de la reacción inflamatoria. Estos pueden a su vez prolongar la inflamación y aumentar el daño tisular por la liberación de enzimas, mediadores químicos y radicales libres tóxicos, entre otros. La secuencia de estos “acontecimientos leucocitarios” se divide en: marginación, adherencia, migración según el estímulo quimiotáctico, fagocitosis y degradación intracelular y liberación de productos leucocitarios. La fagocitosis del estímulo dañino, es un fenómeno dependiente de energía, que estimula numerosos acontecimientos intracelulares y origina también la secreción de sustancias

no sólo dentro del fagolisosoma, sino también al espacio extracelular, siendo las más importantes: enzimas lisosómicas, radicales libres de oxígeno (RLO) y productos del metabolismo del ácido araquidónico, incluyendo prostaglandinas (PGs) y leucotrienos (LTs). Estos productos son mediadores poderosos de los efectos celulares y vasculares de la inflamación y lesión tisular, y amplifican los efectos del estímulo inflamatorio inicial [Smith y Reynard, 1992; Hirasawa *et al.*, 1987].

En lo referente a los derivados oxigenados del ácido araquidónico (AA), los más importantes son las prostaglandinas y tromboxanos, considerados como autacoides u hormonas locales de acción corta, que se forman rápidamente, ejercen su efecto localmente y se degradan espontáneamente o son destruidas por la acción de enzimas. El AA es un ácido graso poliinsaturado de 20 carbonos (ácido 5, 8, 11, 14-eicosatetranoico), que deriva directamente de la dieta o de la conversión del ácido graso linoléico. Existe de forma esterificada en los fosfolípidos de la membrana, particularmente en el carbono 2 de la fosfatidilcolina y fosfatidilinositol. Para que el AA sea utilizado por la célula para formar eicosanoides, tiene que ser antes liberado de los fosfolípidos, mediante la activación de las fosfolipasas celulares por estímulos mecánicos, físicos y químicos, o por otros mediadores (por ej. C5a). El AA es metabolizado principalmente por dos vías: la vía de la lipooxigenasa (LO) y la vía de la ciclooxigenasa (COX), siendo los productos formados de estas reacciones leucotrienos y prostaglandinas y tromboxanos, respectivamente [Gilroy *et al.*, 1998].

La ciclooxigenasa (COX) transforma rápidamente el AA en el endoperóxido prostaglandina PGG₂ que a su vez es convertido enzimáticamente en PGH₂. En esta conversión se genera un radical libre de oxígeno y entonces, la PGH₂ es convertida enzimáticamente en:

- a) Tromboxano A₂ (TXA₂), que se encuentra en las plaquetas y otras células, es un potente agregante plaquetario de vida media corta (segundos) y vasoconstrictor potente.
- b) Prostaciclina (PGI₂), que se encuentra predominantemente en la pared vascular y es un potente inhibidor de la agregación plaquetaria y vasodilatador.
- c) Prostaglandinas (siendo las más estables: PGE₂, PGF_{2α} y PGD₂), que se encuentran en muchos tejidos y ejercen diversas acciones sobre el tono y la permeabilidad vascular.

Los modelos inflamatorios en animales de laboratorio, permiten valorar cuantitativamente la potencia y efectividad antiinflamatoria de los fármacos antirreumáticos. En los animales de laboratorio ha sido posible diseñar un número importante de modelos experimentales que

representan con bastante fidelidad, algunos procesos inflamatorios. En el caso del modelo de la inflamación por administración subplantar de carragenina, el edema es causado en una primera etapa por la liberación de histamina, serotonina, y elementos del complemento, y en una segunda fase (2-3 h posteriores al estímulo lesivo) por la producción de prostaglandinas, bradicinina y 5-HT, así como la presencia de leucocitos. En su conjunto, todos estos agentes son responsables del incremento en la permeabilidad vascular y del daño causado al tejido conectivo [Crunkhorn y Meacock, 1974; Ferreira *et al*, 1974; Ucelay *et al*, 1988].

ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDALES

ANTECEDENTES

Los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) constituyen en la actualidad, la piedra angular de la terapia antirreumática. Este es un grupo de fármacos que la mayoría de las veces no guardan relación química, pero sí comparten características de actividad terapéutica y de efectos colaterales o secundarios [Insel, 1995]. Ahora bien, a pesar de que todos los antiinflamatorios son capaces de modificar la inflamación, sólo lo hacen de forma paliativa y la mayoría de las veces, no tienen efectos sobre el proceso degenerativo. De hecho, existe una variabilidad considerable en el alivio del dolor obtenido con los AINEs, incluso cuando los agentes pertenecen a la misma familia química. El origen de esta variabilidad interpaciente incluye las diferentes acciones farmacodinámicas, los parámetros farmacocinéticos, o una combinación de ambos [Sharma *et al*, 1999].

Por definición, se espera que los AINEs modulen la inflamación sinovial presente en las articulaciones artríticas. Entonces, considerando que las prostaglandinas potencian el edema producido por bradicinina, histamina y serotonina, se ha postulado que el mecanismo básico (más no el único) de acción de los AINEs es la inhibición de la biosíntesis de prostaglandinas (PGs) [Ferreira *et al*, 1974]. En ese sentido, se ha reportado que son por lo menos 2 las isoformas de la enzima ciclooxigenasa (COX) las responsables de la síntesis de PGs [Seibert *et al*, 1994]. Mientras que la COX-1 está constitutivamente expresada en muchos tejidos y es la encargada de mantener diversas funciones fisiológicas, la COX-2 se expresa de forma local ante el estímulo proinflamatorio de ciertos agentes flogistas, como carragenina. Los mismos autores describieron que el tiempo necesario para que se de la máxima expresión de COX-2 es semejante al requerido para alcanzar el máximo efecto inflamatorio en el modelo experimental de inflamación inducida por carragenina, es decir, a las 3 horas posteriores al estímulo lesivo [Seibert *et al*, 1994; Kun-Yu, 1998]. Así, las PGs formadas por COX-2 (PGE₂) parecen ser de suma importancia en el mantenimiento de la respuesta hiperalgésica e inflamatoria en el sitio de acción [Zhang *et al*, 1997].

Por su parte, en el manejo del dolor agudo postoperatorio, la elección del método mas apropiado dependerá de: (a) la naturaleza de la intervención; (b) la intensidad y duración del dolor esperadas; (c) la disponibilidad de los fármacos y experiencia en su manejo; (d) la eficacia y los efectos adversos de los métodos disponibles; y (e) las variables propias del paciente tales como los padecimientos preexistentes, la edad y el estado psicológico [Justins y Richardson, 1991]. Semejante al estímulo

desencadenado en los procesos inflamatorios de los padecimientos reumáticos aunque en una magnitud puntualmente mayor, el trauma quirúrgico inicia una cascada de complejos eventos fisiológicos que involucran la liberación de diversos compuestos nociceptivos, incluyendo prostaglandinas desde las terminales nerviosas y tejidos dañados, que conducen reacciones inflamatorias y a estados hiperalgésicos [Cervero, 1995].

KETOROLAC, NAPROXEN Y TOLMETIN

La elección de un fármaco como antipirético o analgésico no suele ser una tarea fácil. Además de las consideraciones meramente humanitarias para combatir el dolor, hay evidencias de que un dolor agudo no aliviado puede producir efectos fisiológicos y psicológicos riesgosos. En ese sentido, se ha demostrado que una corta estancia en el hospital, asociada con un efectivo alivio del dolor, disminuyó la morbilidad y la mortalidad, e incrementa la satisfacción del paciente [Yeager *et al*, 1985]. A diferencia de otros miembros de la familia de los AINEs, el ketorolac es capaz de producir un buen alivio del dolor moderado o severo [Bloomfield *et al*, 1986], probablemente debido a que posee varios mecanismos de acción. Esta eficacia analgésica es comparable a la de dosis estándar de varios agentes opioides. Inclusive desde una perspectiva farmacoeconómica, el ketorolac mantiene un perfil más favorable que los opioides debido a que conduce a importantes ahorros en la estancia intrahospitalaria [Gillis y Brogden, 1997]. La biodisponibilidad oral del ketorolac es de entre el 80 al 100%, y las concentraciones pico se alcanzan entre 30 y 60 minutos después de la administración oral, intramuscular o subcutánea. La farmacocinética del ketorolac es lineal en el rango usual de dosificación oral o parenteral (10 a 120 mg) [Gillis y Brogden, 1997].

Como otros AINEs, el ketorolac se une casi por completo a las proteínas plasmáticas (>99%), lo cual resulta en un pequeño volumen aparente de distribución (<0.3 L/kg). En la circulación sanguínea, prácticamente todo el material relacionado con el fármaco se encuentra en su forma intacta (>96 %) y tan solo la fracción restante corresponde al metabolito inactivo p-hidroxicetorolac. En humanos, se excreta en la orina alrededor del 90% de la dosis administrada [Mroszczak *et al*, 1990]. La vida media de eliminación del KT en voluntarios sanos es de alrededor de 5 horas. En los ancianos, la absorción y la unión a proteínas no se afectan. Sin embargo, la depuración se reduce, lo cual resulta en una moderada prolongación de la vida media hasta 6 o 7 horas. Como sería de

esperarse en pacientes con daño renal, la depuración plasmática del KT disminuye y esto conduce a un incremento en la vida media (9 a 10 h) [Brocks y Jamali, 1992].

Ahora bien, se han reportado casos de nefropatía (niveles elevados de creatinina sérica, nitrógeno uréico y potasio en plasma, y oliguria) después del uso parenteral de KT hasta por cinco días [Murray y Watson, 1993; Corelli y Gericke, 1993; Boras-Uber y Brackett, 1992; Schoch *et al*, 1992]. Sin embargo, también se ha reportado toxicidad renal en un número mínimo de pacientes después de dosis únicas de KT [Smith *et al*, 1993]. Por lo tanto, se hace necesario el monitoreo del fármaco incluso en pacientes que no reciben largos tratamientos.

Por otra parte, a diferencia del dolor agudo, en el campo de la reumatología la decisión se vuelve mas compleja y la elección de un AINE determinado es comúnmente empírica. Particularmente en el caso de la población infantil, solo se recomienda el uso de fármacos que hayan sido probados ampliamente, tal es el caso básicamente de la aspirina, el tolmetín y el naproxén. Sin embargo, la asociación del síndrome de Reye en niños con la administración de aspirina en diferentes situaciones limita su uso [Insel, 1995; Uziel, 1999; Cassidy JT, 1999].

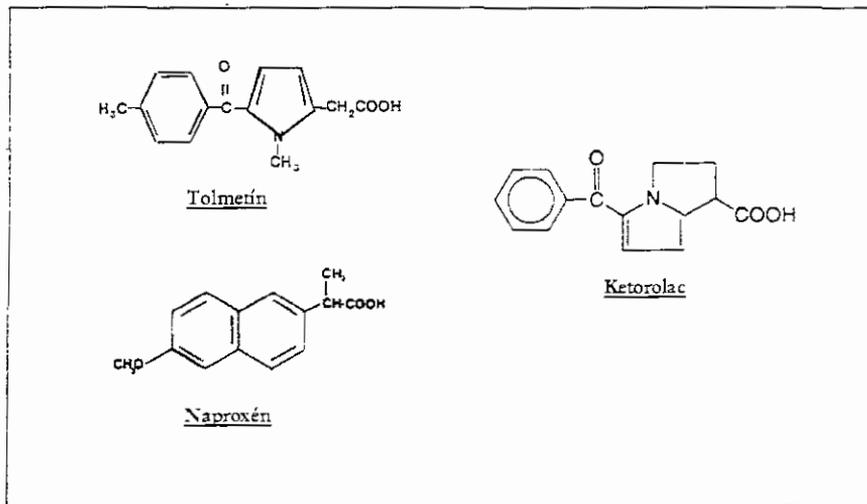


Figura 6. Estructura química de naproxén, tolmetín y ketorolac.

El tolmetín y el ketorolac son derivados del ácido heteroaril acético, mientras que el naproxén es un derivado del ácido propiónico. La estructura química de estos compuestos se muestra en la Figura 6.

El tolmetín es un fármaco relativamente antiguo, pues fue introducido al mercado a mediados de los 70's. A las dosis recomendadas (0.8 a 1.6 g al día), es aproximadamente equivalente en eficacia a dosis elevadas de aspirina (3.9-4.5 g al día), aunque usualmente es mejor tolerado. El uso principal de este AINE es el tratamiento de la osteoartritis, la artritis reumatoide, y la forma juvenil de la misma, aunque también se ha empleado en el tratamiento de la espondilitis anquilosante [Cassidy, 1999].

El tolmetín se absorbe rápida y completamente después de su administración oral. El pico de concentración se alcanza en 20 a 60 minutos después de una dosis oral y su vida media plasmática es de alrededor de 5 h. La acumulación del fármaco en el líquido sinovial comienza hacia las dos horas y persiste por hasta 8 días después de una administración oral única. Después de absorberse, el tolmetín se une extensamente a las proteínas plasmáticas (>99%). Prácticamente todo el fármaco puede recuperarse en la orina después de 24 h. El fármaco excretado se encuentra en su mayor parte conjugado o metabolizado. La transformación metabólica principal supone la oxidación del grupo p-metil a un ácido carboxílico. Se ha postulado que la magnitud de esta reacción puede ser dependiente del género [Granados-Soto *et al*, 1996; Jimenez *et al*, 1999].

Por otra parte, diferentes estudios clínicos han mostrado que naproxén comparte el espectro de eficacia con el tolmetín en el tratamiento de los signos y síntomas de enfermedades reumáticas. No obstante, su perfil antipirético lo hace preferido en el manejo de la artritis y la fiebre relacionados con la fiebre reumática [Uziel *et al*, 2000], siendo inclusive mejor tolerado.

El naproxén es aproximadamente 20 veces más potente que la aspirina como inhibidor de la ciclooxigenasa, aunque no presenta selectividad por ninguna de las isoformas [Rabasseda, 1992]. El naproxén es un inhibidor mixto de COX-2, mientras que para la COX-1 no es tiempo-dependiente (Figura 7 [Gierse *et al*, 1999]).

Este fármaco presenta una vida media mayor que otros compuestos de su misma clase química, lo que hace más cómoda su administración - dos veces al día -. El naproxén se absorbe completamente después de una dosis oral. La concentración máxima se alcanza entre 2 y 4 h, y puede ser más rápido si se administra como la sal sódica. La vida media (14 h) puede incrementarse al doble en sujetos ancianos, en los que puede requerirse un ajuste de la dosis

	IC ₅₀ PGE ₂ ELISA (μM)	
	2 min	10 min
COX-1	0.3 (0.069 mg/L)	24 (5.53 mg/L)
COX-2	0.08 (0.018 mg/L)	197 (45.39 mg/L)

Gierse, et al, (Biochem.J),1999.

Figura 7. Características tiempo-dependientes de la inhibición no selectiva del naproxén sobre la COX.

Los metabolitos del naproxén se excretan casi por completo en la orina. Alrededor del 30% del fármaco se metaboliza por 6-desmetilación, y este metabolito así como el resto del fármaco se excreta como glucurónido. Al igual que el tolmetín, el naproxén se une casi por completo a las proteínas plasmáticas (99%), después de dosis terapéuticas normales

RELACIÓN FARMACOCINÉTICA-FARMACODINÁMICA DE LOS ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDALES

A diferencia de la farmacocinética, el entendimiento de la farmacodinamia se ha visto limitada por el lento desarrollo de modelos de respuestas fisiológicas significativas, que puedan ser cuantificadas reproduciblemente en el ser humano. No obstante, ha sido posible el uso de modelos matemáticos para describir la relación concentración-efecto de varias clases de fármacos, incluyendo antiarrítmicos [Holazo *et al*, 1986], agonistas de receptores β_2 [Hochhaus y Mollmann, 1992], glucósidos cardíacos [Kelman y Whiting, 1980], bloqueadores de canales de calcio [Kleinbloessem *et al*, 1984], bloqueadores neuromusculares [Sheiner *et al*, 1979], benzodiazepinas [Mandema *et al*, 1991], y otros.

Ahora bien, existe un limitado conocimiento de las relaciones entre la farmacocinética y la farmacodinámica de los analgésicos [Inturrisi *et al*, 1990; Suri *et al*, 1997] en el ser humano. Esto podría deberse, probablemente, a la complejidad propia de los estudios clínicos sobre analgesia. Esta clase de estudios a menudo tiene determinadas características; es decir, una vez iniciado el proceso doloroso, - a menudo debido a una intervención quirúrgica - el paciente recibe la administración de una sola dosis de un determinado analgésico o de placebo. Posteriormente, en intervalos específicos de tiempo después de la administración, se evalúa la intensidad del dolor o el alivio del mismo para medir la eficacia del analgésico.

En particular, para el caso del KT existe un estudio retrospectivo, con enfoque poblacional, publicado por Mandema y Stanski [1996], donde los autores sugieren la existencia de un retardo, cuantificable por un modelo distribucional, del efecto analgésico del KT respecto a su concentración. Sin embargo, los datos empleados por estos autores provenían de una multitud de estudios previos donde se evaluaron por separado la farmacocinética y la farmacodinamia. En claro contraste a la observación del retardo, Granados-Soto *et al* [1995b] demostraron una relación de tipo directo entre la concentración y el efecto analgésico del KT en un modelo experimental en la rata.

Por otra parte, cuando el efecto farmacológico de interés resulta ser la eficacia antiinflamatoria, deben considerarse varias situaciones. Por una parte, aunque la etiología de las enfermedades reumáticas no está bien clara aún, los AINEs son considerados el tratamiento de elección en enfermedades de tipo reumático. Por otra parte, las mediciones del fármaco en plasma no siempre

reflejan los niveles en los sitios inflamados y la respuesta entonces suele verse retrasada, por lo que la correlación entre niveles plasmáticos y los efectos antiinflamatorio/analgésico es difícil de establecer en estos agentes. Además, los AINEs suelen tener propiedades adicionales relacionadas con su efecto sobre la inflamación. De hecho, no está claro el por qué algunos de estos agentes actúan inicialmente como analgésicos y después como antiinflamatorios (v.gr. aspirina), mientras que en otros ocurre lo contrario (naproxén, diclofenac, etc). Interesantemente, este retardo entre los cambios de la concentración plasmática y la intensidad del dolor es más probable si el AINE es administrado por vía intravenosa o si se absorbe rápidamente. Es decir, después de una administración oral con un proceso de absorción lento el retardo será menor. Por tanto, el curso temporal de la analgesia (también del efecto antiinflamatorio) puede ser incluso independiente de la vida media del fármaco. Por otra parte, en contraste con la analgesia a concentraciones bajas pero continuas, se aprecia una mejor respuesta antiinflamatoria, por lo que parece evidente que los mecanismos intrínsecamente antiinflamatorios de algunos AINEs conducirán a diferentes comportamientos en la relación FC-FD cuando se determina el efecto analgésico [Walker, 1995].

El retraso en el caso del efecto analgésico de varios AINEs se ha podido explicar a través de procesos de distribución con diferentes velocidades. Esto conduce a la diferencia de velocidad entre la desaparición de la concentración y su efecto analgésico (definido por una constante ke_0). Sin embargo, la información disponible respecto al correspondiente efecto antiinflamatorio es limitada, y aparentemente solo hay reportes acerca de la actividad antiplaquetaria *in vitro* o *ex vivo* para la aspirina, naproxén, indometacina, ibuprofen, (s)-etodolac y (s)-ketoprofen. Esta falta de información probablemente sea debida a las dificultades técnicas para medir la respuesta *in vivo* [Walker, 1995].

En el caso del naproxén se ha reportado que existe una correlación entre la concentración total en plasma del AINE y la concentración articular de PGE_2 , en pacientes con artritis reumatoide [Bertin *et al*, 1994]. Por otra parte, en el caso del tolmetín, aunque la actividad de la ciclooxigenasa sinovial se mantuvo suprimida por 24 h después de varias dosis de tolmetín, no fue posible establecer una relación clara entre la concentración de PGE_2 sinovial y de tolmetín en plasma [Dromgoole *et al*, 1982]. No obstante, en ninguno de los estudios se propuso algún modelo predictivo que considere los factores implicados en los mecanismos de acción, la fisiología y las fuentes de variabilidad en las poblaciones.

ALTERACIÓN EN LA UNIÓN A PROTEÍNAS DE LOS AINES

Para los fármacos que actúan de manera reversible, como es el caso de los AINEs, se ha propuesto que su distribución, eliminación, y efecto farmacológico está íntimamente relacionado con su concentración libre en el sitio de acción. Esta concentración es difícil de medir y en la práctica, es mas conveniente la determinación de la concentración total del fármaco. La relación entre las dos concentraciones (total y libre), depende de la unión no específica a las proteínas plasmáticas y del tiempo necesario para alcanzar el equilibrio en ambos sitios (plasma y sitio activo). Es decir, a medida que la fracción de fármaco libre va siendo eliminada o metabolizada las proteínas van liberando cantidades adicionales, de forma que la fracción unida del producto se encuentra en equilibrio con la fracción libre. Esta relación depende de factores propios del organismo así como de las características fisicoquímicas de la sustancia. Entonces la unión a proteínas plasmáticas, a otros sitios de unión en tejidos o a los receptores, puede afectar la potencia y curso temporal de acción de los fármacos. Ahora bien, si se pudiera ignorar el tiempo de equilibrio, la concentración total del fármaco debería proporcionar una correlación tan buena como la esperada con el fármaco libre en el sitio activo. Sin embargo, en la realidad el problema se presenta con la gran variabilidad en el tipo y grado de unión a las proteínas plasmáticas. El estado de enfermedad suele ser la causa principal de variabilidad en la unión. Entre éstas, son los padecimientos hepáticos y renales las situaciones en las cuales se podría esperar una mayor frecuencia de alteraciones en la unión como resultado de la acumulación de fármaco y/o sus metabolitos. Es claro, entonces, que existe la necesidad de medir la unión a proteínas, para comprender las consecuencias farmacocinéticas y terapéuticas de las alteraciones en la unión [Tozer, 1984].

En el caso particular de los AINEs, que presentan un elevado grado de unión a proteínas plasmáticas, volumen de distribución del fármaco libre pequeño y alta correlación entre la concentración plasmática del fármaco y su respuesta, la posibilidad de que se produzcan desplazamientos por causas fisiopatológicas o producidas por la administración concomitante de fármacos, puede, potencialmente, ser de trascendencia clínica, ya que al aumentar las concentraciones libres en el plasma podrían aumentar las concentraciones en la biofase y causar efectos no deseados. En ese sentido, se sabe que la unión de prácticamente todos los fármacos ácidos (como los AINEs), que se unen principalmente a la albúmina, está disminuida por un factor de dos a tres en la enfermedad renal. Parte de esa disminución está asociada con la hipoalbuminemia, aunque también

hay una disminución en la afinidad aparente debida al desplazamiento de ligandos endógenos [Sjoholm *et al*, 1976]. En el caso de las enfermedades hepáticas es mas difícil anticipar qué tipo de cambios pueden ocurrir ya que existe una gran variabilidad en la unión. En todo caso, solo en padecimientos crónicos como la cirrosis pueden esperarse cambios de trascendencia clínica en fármacos que presenten un extenso metabolismo hepático. Tal podría ser el caso tanto de naproxén como de tolmetín, donde la fracción libre del fármaco puede variar hasta 8 veces a lo largo del rango de concentraciones que se obtienen después de dosis terapéuticas [Borga y Borga, 1997]. Ambos AINEs son metabolizados por el hígado y se han reportado cambios en la depuración y vida media (naproxén), como consecuencia de padecimientos renales y hepáticos, y por envejecimiento. En estos fármacos su administración concomitante con anticoagulantes como la warfarina bajo condiciones de una disminución en el grado de unión debería evitarse [Verbeek *et al*, 1983; Hyneck *et al*, 1988].

JUSTIFICACIÓN

Por todo lo mencionado anteriormente, se establece la necesidad de trabajos que, de manera extensa y cuantitativa, evalúen la influencia de los cambios en los parámetros farmacocinéticos, en particular la contribución de la unión a proteínas plasmáticas, sobre la potencia y el curso temporal del efecto farmacológico. En el capítulo introductorio de esta tesis se presenta una revisión de los conceptos mas importantes a considerar, para el desarrollo de modelos que expliquen y anticipen la relación FC-FD de los fármacos bajo diferentes condiciones fisiológicas.

Uno de los objetivos mas útiles del establecimiento de la relación entre la concentración de un fármaco y su efecto, es la discernimiento de la mejor estrategia de dosificación del medicamento. En el caso del tratamiento del dolor agudo, el ketorolac ha demostrado ser una buena alternativa a los opioides. No obstante, su elevada potencia puede derivar en efectos colaterales graves si no hay un buen manejo de la dosificación del analgésico. Con el fin de evaluar la adecuabilidad de una dosis de 30 por vía intramuscular del ketorolac, en el capítulo I de esta tesis se empleó un enfoque probabilístico para correlacionar la farmacocinética del ketorolac con su efecto analgésico en pacientes con dolor postoperatorio severo.

Ahora bien, como se menciona en el capítulo introductorio, el diseño experimental de los estudios FC-FD requiere la selección de modelos representativos. Éstos, deberían permitir la evaluación del impacto de diferentes variables fisiológicas, fisiopatológicas y/o ambientales. Previamente, se ha descrito que el género es una variable cuya trascendencia difiere dependiendo del fármaco y sistema biológico estudiado. Entonces, y con el objetivo secundario de limitar la extensión de este trabajo, en el capítulo II se valoró la existencia de diferencias debidas al género sobre los parámetros farmacocinéticos de los AINEs. Lo anterior permitió definir la mejor opción, entre machos o hembras, en cuanto al tipo de animales a emplear en el resto de los protocolos experimentales.

Un vez definida la conveniencia de emplear ratas macho en los estudios FC-FD, la otra variable que consideramos de trascendencia evaluar, fue la alteración en los niveles circulantes de albúmina plasmática. Lo anterior, se debe a que la extensa unión a esta proteína, es una característica común entre los AINEs como tolmetín y naproxén. Diferentes investigadores han postulado que la disminución de la albúmina puede incrementar la fracción libre del fármaco y, con ello modificar la

magnitud y/o la duración de la respuesta. Ahora bien, existen hipótesis que mencionan que las modificaciones en la fracción libre subsecuentes a diferentes patologías, no solo radican en la disminución *per se*, sino en cambios en las propiedades de unión de la albúmina por el fármaco. Por ello, en el capítulo III, se investigó el efecto de un estado de hipoalbuminemia moderada sobre las propiedades de unión del tolmetín. Debido a la magnitud de los cambios hallados se podía anticipar algún impacto sobre las propiedades farmacocinéticas y el efecto antiinflamatorio de este AINE, tal como se menciona mas adelante.

Por otra parte, en virtud de la diversidad de enfoques actualmente disponibles para analizar la información tanto farmacocinética como farmacodinámica, se hace necesario discernir la mejor opción de acuerdo al tipo de datos con los que se cuenta. En el capítulo IV, se muestran las ventajas de emplear el enfoque poblacional de efectos mixtos -con predicción individual por métodos Bayesianos-, en la caracterización de efecto de la hipoalbuminemia moderada sobre la farmacocinética del tolmetín.

La fase anterior es esencial en la caracterización de la relación entre la concentración y el efecto de un fármaco. Ahora bien, con el fin de elegir el modelo FC-FD mas apropiado, es esencial identificar el o los procesos biológicos que están implicados en el desencadenamiento de una respuesta inducida por un fármaco. Al contar con esa información, aunque sea de manera parcial, la vinculación entre FC y FD habrá de tener un soporte fisiológico real en vez de solo números y ecuaciones abstractas. Con lo anterior en mente, en el capítulo V se propuso un modelo poblacional FC-FD de respuestas fisiológicas indirectas que permite explicar el efecto antiinflamatorio del naproxén en ratas.

Finalmente, debido a los cambios evidenciados en las propiedades de unión y la farmacocinética del tolmetín durante un estado hipoalbuminémico, podía anticiparse alguna modificación en el efecto antiinflamatorio del AINE. De hecho, algunos autores han mencionado que la disminución de la unión a proteínas puede traducirse en un incremento puntual del máximo efecto, pero una disminución en la duración de la respuesta, después de una dosis única. En el capítulo VI, el modelo fisiológico desarrollado para el naproxén, fue extendido para caracterizar la repercusión de los cambios en la unión a las proteínas plasmáticas sobre la relación farmacocinética-efecto antiinflamatorio del tolmetín.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar de manera extensa y cuantitativa, a través de modelos poblacionales FC-FD, la influencia de los cambios en los parámetros farmacocinéticos, en particular la contribución de la unión a proteínas plasmáticas, sobre la potencia y el curso temporal del efecto antiinflamatorio de los analgésicos no esteroideos, en un modelo experimental en la rata.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Evaluar la biodisponibilidad del KT y su efecto analgésico empleando el enfoque probabilístico sugerido por Laska et al, [1991], en pacientes con dolor postoperatorio que recibieron 30 mg i.m., con el fin de establecer la efectividad de esa dosis en una población mexicana, y simultáneamente, evaluar la relación entre este efecto analgésico con los niveles plasmáticos del AINE.
2. Debido a las descripciones de diferencias entre género en la farmacocinética y la respuesta farmacológica, se pretende definir la mejor opción, entre machos o hembras, en cuanto al tipo de animales a emplear en los protocolos experimentales.
3. Evaluar la influencia de un estado de hipoalbuminemia moderado sobre los parámetros de unión del tolmetín a las proteínas plasmáticas.
4. Evaluar a través del enfoque poblacional, la influencia de la hipoalbuminemia en la farmacocinética del tolmetín en ratas.
5. Desarrollar un modelo poblacional FC-FD de respuestas fisiológicas indirectas que explique el curso temporal de la inflamación y del efecto antiinflamatorio del naproxén en ratas.
6. Caracterizar el impacto de la hipoalbuminemia moderada sobre el efecto antiinflamatorio del tolmetín en ratas, empleando modelos FC-FD con enfoque poblacional

HIPÓTESIS GENERALES

- H₁. El análisis probabilístico permitirá definir que la dosis intramuscular de 30 mg de trometamina de ketorolac es suficiente para aliviar el dolor postoperatorio severo o muy severo en un plazo razonable y durante un período de tiempo adecuado, con un riesgo mínimo de efectos colaterales potencialmente graves (Capítulo I).
- H₂. Existen diferencias en la farmacocinética del tolmetín en ratas, administrado por vía oral, debidas al género (Capítulo II).
- H₃. La hipoalbuminemia moderada en ratas, inducida por un procedimiento experimental de plasmaféresis, modifica los parámetros de unión del tolmetín a las proteínas plasmáticas (Capítulo III).
- H₄. El incremento en la fracción libre del tolmetín, subsecuente a un estado de hipoalbuminemia moderada, se traduce en cambios en los parámetros farmacocinéticos del AINE administrado por vía oral (Capítulo IV).
- H₅. El efecto antiinflamatorio del naproxén está modulado por su farmacocinética y puede ser descrito por modelos FC-FD de respuestas fisiológicas, donde se supone que la inflamación inducida por la carragenina está condicionado a la síntesis y liberación de mediadores endógenos (Capítulo V).
- H₆. La hipoalbuminemia modifica el curso temporal de la inflamación, pero también las propiedades antiinflamatorias del tolmetín administrado por vía oral a ratas (Capítulo VI).

CAPITULO I. EFICACIA ANALGÉSICA Y BIODISPONIBILIDAD DEL KETOROLAC EN PACIENTES CON DOLOR POSTOPERATORIO: UN ANÁLISIS PROBABILÍSTICO.

RESUMEN

El ketorolac (KT), uno de los analgésicos anti-inflamatorios no-esteroidales (AINEs) más potentes, es empleado en el tratamiento del dolor moderado a severo. Sin embargo, no hay consenso acerca del mejor esquema de dosificación de este fármaco. El propósito de este trabajo fue establecer la confiabilidad de una dosis intramuscular de 30 mg de KT, con un enfoque probabilístico que relaciona varios parámetros de analgesia y los niveles plasmáticos del fármaco. Se estudió la relación entre la biodisponibilidad y el efecto analgésico del KT en 24 pacientes después de una cirugía mayor, y que informaron la presencia de dolor severo o muy severo. Dos pacientes abandonaron el estudio, mientras que 22 obtuvieron al menos un buen alivio del dolor. 16 de esos 22 pacientes alcanzaron un alivio total. Aunque el KT se absorbió rápidamente, el alivio del dolor se instauró de manera gradual, mostrando un claro desfase con el curso temporal de la concentración plasmática. Las curvas del análisis de probabilidad revelaron que 25% de los pacientes obtuvieron un alivio moderado del dolor 7 minutos después de la administración del KT, 50% a los 11 minutos, 75% a los 29 y 95% a los 60 minutos. Un buen alivio del dolor se obtuvo en 25%, 50 y 75% de los pacientes a las 1.1, 1.8 y 2.7 h respectivamente. El alivio total del dolor solo se alcanza en 25 y 50% de los pacientes en 2.6 y 3.7 h. La duración de la respuesta analgésica a un nivel aceptable de alivio se estimó en 5 h con una probabilidad de 97%. No se detectaron efectos colaterales graves. Los resultados mostraron que la dosis de 30 mg i.m. de KT es un tratamiento adecuado para el dolor postoperatorio en una población mexicana. De análisis de probabilidad se concluye que no se justifica el empleo de dosis mayores, mientras que debido a la instalación gradual del efecto analgésico, no se recomienda la administración adicional de analgésicos antes de una hora.

INTRODUCCIÓN

El ketorolac es un AINE que ha mostrado ser efectivo después de administrarlo oral y parenteralmente [Brocks y Jamali, 1992. Flores-Murrieta y Granados-Soto, 1996]. Al igual que El

KT es un analgésico del grupo de los fármacos antiinflamatorios no esteroideos que produce su efecto a través de diversos mecanismos de acción, entre los que se encuentran la inhibición de la síntesis de prostaglandinas [Rooks *et al.*, 1982] y la liberación de óxido nítrico [Granados-Soto *et al.*, 1995a].

El KT es capaz de producir un buen alivio del dolor moderado o severo, como el observado después de una variedad de procedimientos quirúrgicos [Bloomfield *et al.*, 1986], probablemente debido a que posee varios mecanismos de acción. Esta eficacia analgésica es comparable a la de dosis estándar de varios agentes opioides, pero con una mayor duración [Flores-Murrieta y Granados-Soto, 1996]. Inclusive desde una perspectiva farmacoeconómica, el KT mantiene un perfil más favorable que los opioides debido a que conduce a importantes ahorros en la estancia intrahospitalaria [Gillis y Brogden, 1997]. En general, el KT es bien tolerado por la mayor parte de los sujetos. Sin embargo, existen pacientes susceptibles en los cuales puede existir una importante incidencia de efectos adversos que van desde efectos leves hasta efectos muy graves [Buckley y Brogden, 1990; Pearce *et al.*, 1993; Lanza *et al.*, 1987]. Los reportes de efectos adversos más severos han sido observados en pacientes que recibieron dosis de 60 mg o mayores [Boras-Uber y Brackett, 1992; Lanza *et al.*, 1987, Quan y Kayser, 1994].

Varios reportes clínicos sugieren para obtener un adecuado alivio del dolor postoperatorio se requieren dosis de 30 mg de KT por vía intramuscular [Brown *et al.*, 1990; Spindler *et al.*, 1990]. Mandema y Stanski [1996], realizaron un estudio retrospectivo usando un enfoque poblacional también concluyeron que esta dosis producía una adecuada eficacia analgésica con seguridad aceptable. Sin embargo, estos autores usaron parámetros farmacocinéticos obtenidos de voluntarios, mientras que los datos de analgesia fueron derivados de estudios clínicos independientes. Actualmente, no se tiene información de un estudio en el que simultáneamente se evalúe la farmacocinética y la farmacodinamia de este fármaco.

A pesar de los reportes anteriores, se continúan empleando dosis superiores a 30 mg de KT, e incluso el principal fabricante lo recomienda [Flores-Murrieta y Granados-Soto, 1996]. Por ello, no parece existir un consenso general acerca de la dosificación óptima. Una estrategia auxiliar en

la toma de decisiones anterior fue propuesta por Laska *et al* [1991], quienes sugirieron el uso de métodos estadísticos para describir el mejor tratamiento, en términos de la probabilidad de obtener una respuesta clínicamente significativa en el tiempo (*onset*), la probabilidad del tiempo de finalización de la misma (*offset*) y la duración total.

OBJETIVOS

Evaluar la biodisponibilidad del KT y su efecto analgésico empleando el enfoque probabilístico sugerido por Laska *et al*, [1991], en pacientes con dolor postoperatorio que recibieron 30 mg i.m., con el fin de establecer la efectividad de esa dosis en una población mexicana, y simultáneamente, evaluar la relación entre este efecto analgésico con los niveles plasmáticos del AINE.

HIPOTESIS

El análisis probabilístico permitirá definir que la dosis intramuscular de 30 mg de trometamina de ketorolac es suficiente para aliviar el dolor postoperatorio severo o muy severo en un plazo razonable y durante un período de tiempo adecuado, con un riesgo mínimo de efectos colaterales potencialmente graves.

PACIENTES Y MÉTODOS

Sujetos y diseño del estudio

Participaron en el estudio 24 pacientes (14 mujeres y 10 hombres) que fueron sometidos a un determinado tipo de cirugía mayor y que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión. Los datos demográficos correspondientes aparecen en la Tabla I.

Los sujetos leyeron el protocolo aprobado por el Comité de Investigación y Ética del Hospital y dieron su consentimiento informado para participar. El estudio se llevó a cabo en el Hospital Central de Petróleos Mexicanos y se realizó siguiendo las recomendaciones de la Declaración de Helsinki. Los pacientes tuvieron la libertad de abandonar el estudio en cualquier momento, si ellos consideraban que el tratamiento era inadecuado o insuficiente.

Tabla I-1. Datos demográficos y tipo de cirugía a la que fueron sometidos los pacientes con dolor postoperatorio para la evaluación de la relación entre la farmacocinética y el efecto analgésico del ketorolac.

SUJETO	SEXO	EDAD (años)	TALLA (cm)	PESO (kg)	CIRUGÍA REALIZADA
1	F	45	157	52.1	ARTROPLASTÍA
2	F	35	146	69.0	OSTEOTOMÍA DE CADERA
3	M	36	158	55.0	DISCOIDECTOMÍA
4	M	24	170	70.5	FISTULECTOMÍA
5	M	42	173	80.0	ARTRODESIS COLUMNA LUMBAR
6	M	24	176	84.0	DISCOIDECTOMÍA
7	F	34	162	57.0	HISTERECTOMÍA ABDOMINAL
8	F	36	161	64.5	HISTERECTOMÍA ABDOMINAL
9	F	38	162	60.3	HISTERECTOMÍA
10	F	39	162	60.8	MASTECTOMÍA
11	F	24	154	59.5	REDUCCIÓN MAMARIA
12	F	28	155	59.5	PLASTÍA MAMARIA
13	F	36	152	59.0	HISTERECTOMÍA
14	M	30	176	67.0	HERNIOPLASTÍA INGUINAL DERECHA
15	M	19	155	73.0	RECONSTRUCCIÓN ORBITAL
16	M	49	180	85.0	CRIORETINOPEXIA
17	F	32	160	55.0	LAPAROSCOPIA DIAGNOSTICA
18	F	34	168	60.5	HERNIOPLASTÍA
19	F	30	165	67.5	LAPAROSCOPIA DIAGNÓSTICA
20	F	35	158	58.5	LAPAROSCOPIA DIAGNÓSTICA
21	M	20	165	65.0	PLASTIA JONES
22	F	44	155	54.0	HISTERECTOMÍA
23	M	55	165	70.0	PIELOGRAFÍA
24	M	49	160	70.5	PROSTATECTOMÍA TRANSURETRAL
Promed.o		34.92	162.29	64.88	
Error Estándar		2.02	1.84	1.93	

Una vez que los pacientes se recuperaron de la anestesia, la determinación de la intensidad de dolor inicial se realizó a través de la pregunta "¿Su dolor en este momento es inexistente, ligero, moderado, severo o muy severo?". Los pacientes que reportaron un dolor severo o muy severo, que requiriera analgésicos parenterales, fueron incluidos en el estudio. Debido a este criterio de inclusión, por recomendación del comité de ética se evitó el empleo de un grupo control placebo.

Determinación de la biodisponibilidad del ketorolac.

Se obtuvieron muestras sanguíneas de una vena del antebrazo, empleando el mismo esquema de muestreo que para la evaluación del dolor y efecto analgésico (ver abajo). Las muestras sanguíneas

se centrifugaron para obtener el plasma, el cual se conservó a -70°C hasta su posterior análisis. Las concentraciones plasmáticas de KT se determinaron con un método de cromatografía líquida previamente reportado por Flores-Murrieta *et al* [1994]. Se construyeron curvas de concentración plasmática *vs* tiempo, y se obtuvieron la concentración máxima (C_{max}) y el tiempo necesario para alcanzarla (t_{max}) directamente de esas curvas. El área bajo la curva (ABC) se obtuvo empleando la regla de los trapezoides [Rowland y Tozer, 1989].

Evaluación de la eficacia analgésica y los efectos adversos.

Inmediatamente después de la medición de la intensidad basal del dolor se administraron a los pacientes, 30 mg de trometamina de ketorolac por vía intramuscular (Dolac, Roche-Syntex, Mexico D.F.). Empleando escalas de evaluación verbal, se registraron la intensidad y el alivio del dolor a las 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 h posteriores a la administración del analgésico. La escala de evaluación de la intensidad del dolor contenía los siguientes valores, inexistente (0), ligero (1), moderado (2), severo (3) y muy severo (4). Para evaluar el alivio del dolor, la escala verbal utilizada fue la siguiente: ningún alivio (0), alivio pequeño (1), alivio moderado (2), alivio suficiente (3) y alivio total (4). Además, al finalizar las seis horas del estudio, los pacientes fueron cuestionados acerca de su opinión en cuanto al tratamiento global. Los resultados se evaluaron en una escala de cinco puntos donde: 0 = ninguna ayuda; 1 = mínima ayuda; 2 = buena terapia, 3 = muy buena terapia y 4 = excelente terapia. Las reacciones adversas se registraron por las manifestaciones espontáneas de los pacientes, así como por cuestionarios no sesgados por parte del investigador clínico.

Varios indicadores de la analgesia se derivaron de los datos de los cuestionarios. La diferencia en la intensidad de dolor (PID), es la diferencia entre la intensidad de dolor anotada en el punto de observación y la intensidad basal. La suma de las diferencias en la intensidad de dolor (SPID) es la suma en cada punto de las mediciones de PID, pesadas por el intervalo de tiempo entre las evaluaciones, y es un estimado del área bajo la curva temporal del efecto. TOTPAR representa la suma en cada punto de las mediciones de alivio, también pesadas por el intervalo de tiempo entre las evaluaciones. Si ambas escalas (evolución de dolor y alivio) son insesgadas, los valores de las

variables sumadas SPID y TOTPAR no deben ser estadísticamente distintos. El tiempo al pico, es el tiempo desde la administración en que ocurre el máximo valor de PID. El %Area es el área bajo la curva temporal del efecto observado dividido por el máximo valor alcanzable de área en la escala. Si algún paciente solicitara abandonar el estudio antes de una hora, todas sus evaluaciones de alivio de dolor anteriores, no serían consideradas en el modelaje. Por otra parte, si algún paciente requiriera analgesia adicional después de la primera hora, ésta sería proporcionada y los datos se incluirían en el análisis fijando sus mediciones de alivio en cero y la intensidad de dolor igual al valor basal, durante el resto del período de observación (datos censurados).

Modelo logístico para la evaluación de la eficacia analgésica.

Se empleó el enfoque sugerido por Laska *et al* [1991] para analizar y sumarizar los datos de tiempo de inicio (*onset*), finalización (*offset*) y duración del efecto. El punto de inicio se definió como el tiempo necesario para alcanzar un alivio del dolor significativo (nivel 2 en la escala de 0 a 4). Una vez alcanzado el máximo efecto en el alivio del dolor, el momento en el cual el paciente indicara una disminución cualquiera desde ese nivel de efecto se definió como punto de finalización. La diferencia entre ambos puntos establece la duración del efecto analgésico. El análisis estadístico de las variables subjetivas de inicio, finalización y duración se basó en un modelo bivariado de cura [Siegel *et al.*, 1989]. Este modelo considera la posibilidad de que no todos los pacientes responderán a un tratamiento y que en aquellos que responden, el efecto del fármaco no desaparecerá, es decir parecerían estar "curados", sin requerir redosificación. Para derivar estimados significativos de inicio, finalización y duración de acción, los resultados de los casos anteriores necesitan ser tratados de manera diferente de aquellos pacientes donde claramente hay un inicio y un final del efecto. El modelo de cura toma en consideración estas diferencias y puede expresarse como:

$$H(t) = P(\text{parámetro} > t) = (1 - p) + p S(t) \dots \dots \dots (1)$$

Donde $H(t)$ es la distribución de probabilidad de sobrevivencia de las variables observadas; p es la proporción de pacientes que responden de manera normal al evento (vgr. tener un inicio de acción), y $S(t)$ es la distribución condicional de sobrevivencia que representa la probabilidad de

que el evento (inicio o final del efecto) ocurra después de un tiempo determinado t , dado que finalmente ha de ocurrir.

Debido a la naturaleza no-paramétrica de las escalas de medición empleadas, p y $S(t)$ se estimaron con un análisis tipo Kaplan-Meiers al límite [Bland, 1987]. Todas estas probabilidades se modelaron estadísticamente a una distribución logística. Aplicando el modelo anterior también fue posible estimar las distribuciones de probabilidad de obtener una respuesta deseada. La respuesta deseada fue considerada a tres niveles: alivio moderado, suficiente y total.

RESULTADOS

Biodisponibilidad. La Figura I-1A muestra los niveles plasmáticos obtenidos después de la administración de 30 mg i.m. de KT en los 22 pacientes que completaron el estudio. El fármaco se absorbió rápidamente, alcanzando una C_{max} de $3.27 \pm 0.32 \mu\text{g/mL}$ (media \pm error estándar) en 0.57 ± 0.06 h. El ABC fue de $9.45 \pm 0.74 \mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$. Los resultados muestran que hay un claro retraso entre el tiempo para alcanzar la concentración máxima y el tiempo para alcanzar el máximo efecto (Figura I-1C).

Evaluación Analgésica. Vienticuatro pacientes participaron en el estudio. No hubo diferencia estadísticamente significativa entre la percepción ($p > 0.05$) en la percepción inicial del dolor o en la evolución del dolor respecto del género, el peso o la talla. De los pacientes estudiados, 66% reportaron inicialmente un dolor muy severo, mientras que el restante 34% se quejó de un dolor inicial severo.

Uno de los pacientes no percibió ningún alivio del dolor durante la primera hora y fue retirado del estudio. Otro paciente reportó un alivio moderado durante la primera hora. Sin embargo, como este alivio no mostró mayor evolución, el paciente solicitó salir del estudio antes dos horas después de la administración del KT. Los restantes 22 pacientes alcanzaron al menos un nivel de alivio suficiente durante el período de observación de 6 horas, aunque 13 de ellos reportaron un alivio completo.

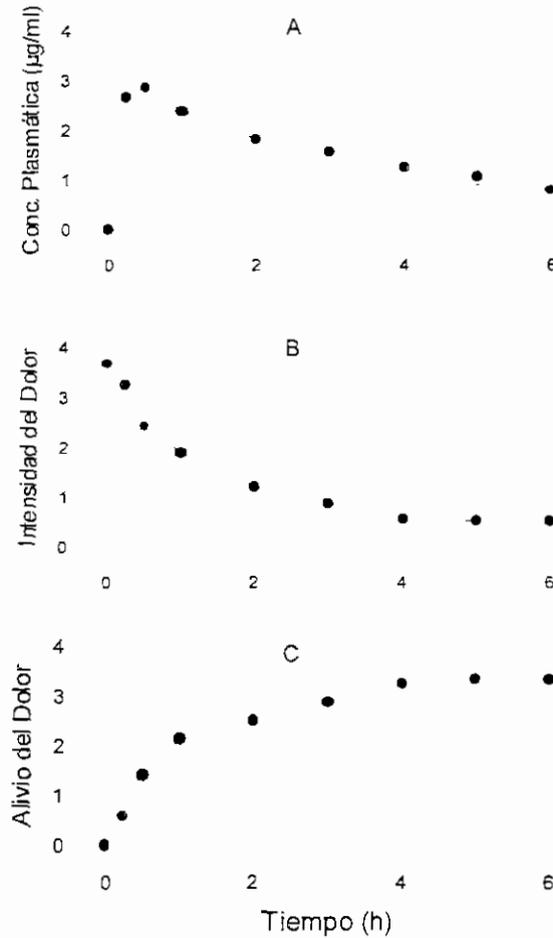


Figura I-1. Curso temporal de las concentraciones plasmáticas promedio (A), evaluación de la intensidad del dolor (B) y evaluación del alivio del dolor observados después de la administración de 30 mg i.m. de ketorolac en pacientes con dolor postoperatorio severo o muy severo. Los resultados se expresan como la media (\pm error estándar), de los 22 pacientes que completaron el estudio.

Los parámetros derivados que describen la respuesta analgésica se muestran en la Tabla I-2. Los cursos temporales de la intensidad y el alivio del dolor se muestran en las Figuras I-1B y I-1C. El alivio del dolor se incrementó lentamente alcanzando un máximo hacia las 3 h, no obstante este máximo efecto se mantuvo por el resto del período de observación.

Las dos variables sumadas de la respuesta analgésica, SPID y TOTPAR, mostraron un estrecha relación sugiriendo que el sistema de evaluación era confiable. La observación directa mostró que

el máximo nivel de alivio de dolor se había alcanzado ya a los 240 minutos (Figura I-1C). El análisis probabilístico mostró que el tiempo promedio requerido para alcanzar el máximo alivio de dolor fue de 198 minutos (Tabla I-2). No obstante el tiempo requerido para al máximo alivio, el % de pico fue elevado (65%). De hecho, la evaluación global por el paciente reflejó que esta dosis de KT provee una muy buena terapia.

Tabla I-2. Parámetros de la eficacia analgésica observados en pacientes con dolor postoperatorio severo o muy severo que respondieron a la administración de 30 mg de trometamina de ketorolac.

Parámetro	Valor
Intensidad basal del dolor	3.7
SPID	15.0
TOTPAR	16.3
% de Pico	68.0
Tiempo al pico	198.0
Evaluación global de la terapia	2.8

Los datos se presentan como los valores promedio de 22 pacientes que completaron el estudio

La Figura I-2 muestra las distribuciones de probabilidad para los eventos, alivio moderado, suficiente y completo estimados con el modelo de cura en los 24 pacientes. 23 pacientes alcanzaron al menos un alivio moderado durante la primera hora. El análisis de las curvas de probabilidad en el tiempo (Figura I-2), revelaron que de los 24 pacientes iniciales, 25% obtuvieron un alivio moderado 7 minutos después de la administración del KT, 50% a los 11, 75% a los 29 y 95% a los 60 minutos. Se alcanzó un alivio suficiente en 25, 50 y 75% de los 24 pacientes, 1.1, 1.8 y 2.7 h después de la administración del KT, respectivamente. El alivio completo del dolor se obtuvo en 25% de los 24 pacientes iniciales en 2.6 h y cuando mas en 50% de los pacientes en 3.7 horas.

Efectos Adversos. Seis pacientes reportaron espontáneamente náusea después del tratamiento con 30 mg i.m. de ketorolac. No se reportó ninguna otra reacción adversa

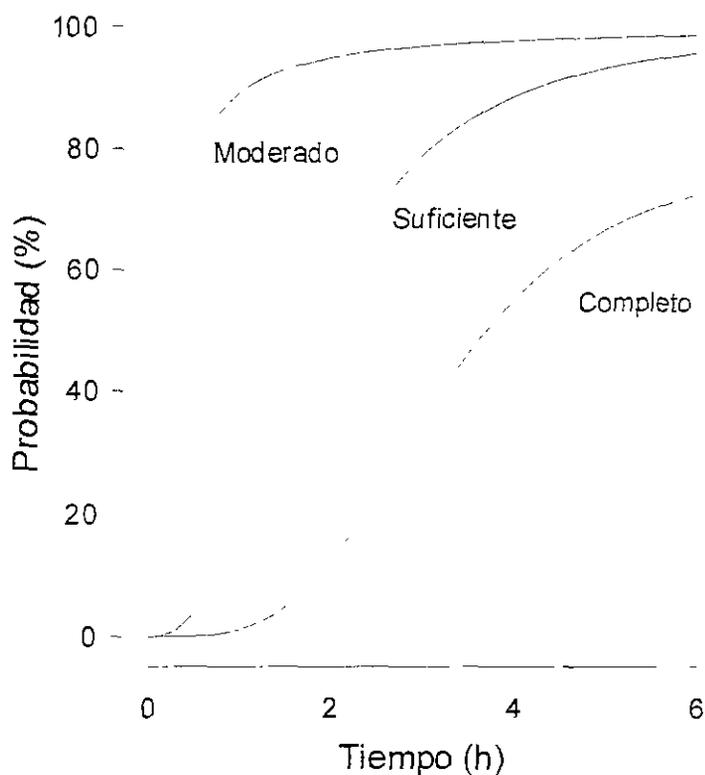


Figura I-2. Curvas del modelo probabilístico de cura para la obtención de un nivel predeterminado de alivio del dolor (moderado, suficiente y completo) en función del tiempo en 24 pacientes tratados con 30 mg i.m. de ketorolac.

DISCUSIÓN

En este estudio se analizó la eficacia analgésica del KT y su biodisponibilidad después de una dosis de 30 mg i.m. en una población de 24 pacientes procedentes de diversas cirugías mayores. Aunque una elevada proporción de estos pacientes reportó una intensidad de dolor inicial muy severa, en la mayoría de los casos se observó un alivio significativo durante la primera hora posterior a la administración del analgésico. Ambas variables, alivio del dolor y diferencias en la intensidad del dolor, se incrementaron posteriormente de manera gradual hasta alcanzar al menos un grado de alivio superior al nivel 3 (suficiente). Estas observaciones iniciales confirman la adecuada eficacia analgésica del KT reportada previamente en poblaciones similares de pacientes [McQuay *et al*, 1986; Morrow *et al*, 1993].

Ahora bien, esta evolución no parece ser influida por la naturaleza de la intervención quirúrgica, pues los pacientes lo mismo procedían de operaciones ortopédicas que de cirugía general. En todo caso, el criterio general era que la operación fuera mayor, es decir, aquellos casos donde el riesgo de un estímulo nociceptivo intenso condiciona un reporte de dolor inicial severo, no importando la zona del cuerpo que se vea afectada. Este punto cobra relevancia cuando se analiza el retardo entre el efecto y las concentraciones plasmáticas como se discute mas adelante.

Por otra parte, debido al componente psicológico presente en el síndrome doloroso, algunos autores han señalado diferencias debidas al género en el comportamiento de respuesta al trauma quirúrgico [Karlson *et al*, 1997]. Estas diferencias en la percepción del dolor, y en la respuesta a la terapia, pueden estar influidas por el papel que desempeñan en la sociedad los hombres y las mujeres, además de los factores diferenciales meramente fisiológicos o bien, el cumplimiento terapéutico del paciente [Myles, 1997; Weir, 1996]. En nuestro estudio, los resultados indican que existe una mínima diferencia en la percepción del dolor, pero ésta solo se manifiesta en el punto inicial de observación, ya que luego de la administración del KT la evolución del alivio del dolor es similar en ambos géneros.

A pesar de la alta proporción de respuestas positivas a la terapia con KT, hubo dos pacientes considerados como falla terapéutica. El primer caso, una paciente de 45 años, sometida a una artroplastía solicitó salir del estudio argumentando carencia total de alivio antes de una hora. El segundo caso, otra mujer de 38 años procedente de una histerectomía pidió ser re medicada y ello la inhabilitó para ser incluida en el estudio. En este último caso, la evaluación de alivio al punto de una hora indicaba el mínimo nivel de alivio (1). Cabe mencionar que algunos investigadores como Rice *et al*, [1991] y Fineschi *et al*, [1997], han descrito que el tiempo de inicio de efecto del KT es inferior o igual a 60 minutos.

Desde la perspectiva farmacocinética, al evaluar en los dos casos anteriores los niveles plasmáticos del KT, fue evidente que éstos se hallaban significativamente por debajo del promedio de los otros 22 pacientes en el punto de observación de una hora. Lo anterior sugeriría algún problema de absorción del analgésico que entonces no fue biodisponible para

ejercer su efecto en estos pacientes. No obstante, no debería ser descartada la posibilidad de que el efecto se hubiera retardado aún más en esas pacientes y que, en todo caso, el período de observación debería haber sido más amplio, aunque ello implicaría otras consideraciones de tipo ético.

Las situaciones anteriores son parte de los problemas inherentes a los estudios de analgesia donde los resultados de la eficacia, vistos desde una perspectiva predictiva, podrían ser sesgados negativamente. Para corregir este tipo de datos Laska *et al*, [1991] han sugerido analizar las propiedades de inicio de efecto y duración de un analgésico con modelos bivariados de cura, los cuales consideran tanto las distribuciones de probabilidad acumulada (los resultados observados), como las de sobrevivencia (datos censurados o incompletos). Nosotros empleamos un enfoque similar pero con un modelo de análisis no paramétrico Kaplan-Meiers al límite para datos censurados. Los resultados obtenidos con dicho análisis indicaron que es posible anticipar que el dolor severo o muy severo prácticamente evolucionará en todos los pacientes de esta población hasta un nivel de alivio de dolor moderado antes de una hora; también, que tal alivio evolucionará hasta un nivel adecuado antes de 3 horas y que, finalmente, perdurará por al menos 5 horas.

Estas observaciones también aplican para el nivel de alivio de dolor suficiente, aunque en este caso la mayoría de los pacientes alcanzan tal efecto en poco menos de tres horas. Sin embargo, es evidente que el alivio total no se puede alcanzar en todos los pacientes; es decir, existe una probabilidad máxima (<72 %) de que se logre la eliminación completa de la sensación dolorosa. Este perfil de eficacia analgésica fue observado en otro estudio donde el ketorolac alcanza su máximo efecto entre 3 y 4 horas después de la administración, y el efecto perdura al menos por 6 horas [Fineschi *et al*, 1997]. En otro trabajo el ketorolac, 30 mg i.m., demostró tener un tiempo de latencia (8 min para el 25% de la población y 26 min para el 50 %) inferior al de morfina 10 mg i.m.; además, el tiempo transcurrido antes de administrar la siguiente dosis fue superior a 13 horas [Rice *et al*, 1991].

Aunque podría señalarse que la notable eficacia analgésica que nosotros observamos corresponde con una población altamente respondedora al KT. Sin embargo, Bartfield *et al*,

[1994] informaron que en una población heterogénea, abierta, de 445 pacientes que presentaban dolor agudo, el 84 % alcanzó un alivio significativo con la misma dosis de KT que nosotros empleamos (30 mg).

Por otra parte, el ketorolac administrado i.m. fue bien tolerado, lo cual es congruente con lo reportado anteriormente [Bartfield *et al*, 1994]. Sin embargo, el uso de dosis superiores (>60 mg) en pacientes postoperatorios, ha sido asociado con casos de eventos adversos serios, tal como falla renal aguda [Flores-Murrieta y Granados-Soto, 1996; Quan y Kayser, 1994; Boras-Uber, 1992]. El ketorolac (30 mg) proporcionó una buena respuesta analgésica en la mayoría de los pacientes. Por ello, no se recomienda el uso inicial de dosis superiores, debido al elevado riesgo de eventos adversos.

Otro de los objetivos de este estudio fue evaluar la posible relación entre la farmacocinética y la farmacodinamia del AINE en este tipo de pacientes. El ketorolac se absorbió rápidamente después de la administración intramuscular. Las concentraciones plasmáticas obtenidas fueron similares a las reportadas en otras poblaciones [Jung *et al*, 1989; Mroszczak *et al*, 1985]. Estos resultados sugieren que la farmacocinética del KT no exhibe una variabilidad interétnica. Como en otros estudios, se observó un considerable retraso entre la analgesia y las concentraciones plasmáticas del ketorolac [Flores-Murrieta y Granados-Soto, 1996; Gillis y Brogden, 1997]. Por ello, no fue posible establecer una relación entre la farmacocinética y la farmacodinamia del KT. Se ha propuesto que este retraso sea debido a una lenta transferencia desde la circulación hacia su sitio de acción [Mandema y Stanski, 1996].

Sin embargo, también se ha propuesto que el retraso en el efecto de los AINEs respecto a su aparición en la circulación se deba a los mecanismos de acción de estos fármacos [Garg y Jusko, 1994, Flores-Murrieta *et al*, 1998]. Es decir, la analgesia no se produce por una interacción directa fármaco-receptor, sino por la activación de una cascada de eventos desencadenados por la inhibición de la síntesis de prostaglandinas. En ese sentido, el retraso puede explicarse por la severidad del estímulo nocivo. En los pacientes postoperatorios, sometidos a un estímulo nocivo severo, hay muy importante producción de prostaglandinas y otros mediadores

nociceptivos [Dickenson, 1996]. La inhibición de la síntesis de prostaglandinas por el KT, evitaría una producción adicional de prostaglandinas. Entonces, el alivio del dolor requeriría la degradación de las prostaglandinas ya formadas, explicando la aparición gradual de la analgesia.

Por tanto, debido a que la diferencia en los cursos temporales de la concentración plasmática y el efecto analgésico fue considerable, es posible sugerir que el retraso se debe tanto a una lenta transferencia del fármaco hacia su sitio (s) de acción, así como al mecanismo (s) de acción del ketorolac. Se requieren estudios adicionales para determinar la verdadera relación entre la farmacocinética y la farmacodinamia del ketorolac en dolor postoperatorio. Es decir, de acuerdo con los resultados aquí presentados, se demuestra claramente que el efecto analgésico del ketorolac en dolor postoperatorio no puede ser predicho puramente con la información farmacocinética.

En conclusión, después de la administración intramuscular de 30 mg de trometamina de KT a pacientes con dolor postoperatorio severo, el análisis probabilístico predijo un tiempo de efecto ($p > 0.9$) de 60 minutos, con probabilidad máxima de alcanzar el alivio total del 72 %. Por lo tanto, no se justifica el empleo de dosis superiores a 30 mg o bien la medicación antes de una hora ya que esto sólo eleva la probabilidad de efectos adversos, sin aumentar la probabilidad de un mayor efecto analgésico.

CAPITULO II. INFLUENCIA DEL GÉNERO EN LA FARMACOCINÉTICA DEL TOLMETÍN EN RATAS.

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue investigar las diferencias farmacocinéticas debidas al género en el tolmetín, un potente fármaco anti-inflamatorio no esteroideal. Ratas Wistar macho y hembra recibieron tolmetín por vía oral a dos niveles de dosis, 3.2 y 10 mg/kg. Después de la administración del fármaco y a ciertos tiempos seleccionados, se tomaron muestras sanguíneas y se determinó la concentración de tolmetín en sangre total. El tolmetín se absorbió rápidamente en todos los casos. La C_{max} se incremento con la dosis, pero fue similar en ambos géneros. Sin embargo, la vida media del tolmetín se incrementó significativamente en hembras comparadas con machos. Como un resultado de la vida media mas prolongada, el área bajo la curva temporal de concentraciones fue significativamente mas alta en hembras que en machos. La depuración de tolmetín se redujo significativamente en hembras. Los resultados del presente estudio, sugieren que las diferencias en la farmacocinética de tolmetín se deben a que la eliminación del fármaco parece estar disminuida en las ratas hembras comparadas con los machos. Por tanto, la existencia de diferencias en la farmacocinética de tolmetín debidas al género en otras especies incluyendo a los humanos, requiere de una futura investigación mas profunda.

INTRODUCCIÓN

El tolmetín es un fármaco anti-inflamatorio no esteroideal, el cual exhibe una analgesia considerable y buena eficacia anti-inflamatoria y antipirética en modelos experimentales [Flores-Acevedo *et al*, 1995; Wong *et al*, 1973]. El tolmetín también ha probado ser efectivo en el tratamiento de artritis reumatoide en humanos [Berkowitz *et al*, 1974; Furst *et al*, 1983], sin que existan referencias en la literatura acerca de diferencias debidas al género sobre su farmacocinética, o sobre sus efectos farmacológicos.

Existe evidencia de que el género puede jugar un papel importante en la farmacocinética de varios fármacos. A principios de los 30's, se reportó que podrían existir diferencias debidas al género, en la manera en la cual los animales metabolizan a los xenobioticos [Holck *et al*, 1937; Nicholas y Baron, 1934]. Desde entonces, un importante número de estudios han documentado diferencias en la cinética de fármacos entre hembras y machos, tanto en animales como en humanos [Bonate, 1991:

Harris *et al*, 1995; Thurman y Hompesch, 1998]. De esta manera, se han reportado diferencias en la velocidad y duración de la absorción de varios fármacos, aunque en general la relevancia clínica de esas diferencias es mínima. Sin embargo, las diferencias en la biodisponibilidad oral sí parecen ser de alguna consideración, y casi siempre están relacionadas a diferencias en la actividad de enzimas metabolizadoras hepáticas e intestinales [Beierle *et al*, 1999].

También, se han descrito diferencias en la distribución de fármacos. Estas podrían ser causadas por diferencias en la composición corporal de machos y hembras, y/o cambios fisiológicos en el ciclo menstrual, así como por diferencias en la unión a proteínas plasmáticas, secundarias a la actividad hormonal [Roskos y Boudinot, 1990; Thurman y Hompesch, 1998].

Por otra parte, se han identificado diferencias por género, frecuentes y clínicamente relevantes, en los procesos de eliminación, lo cual está estrechamente vinculado a la expresión diferencial y genética específica de los sistemas enzimáticos metabolizadores, tal como el CYP3A4 y el CYP1A2 [Waxman *et al*, 1988; Beierle *et al*, 1999].

En particular, observaciones preliminares realizadas por nuestro grupo sugirieron que existían diferencias en la farmacocinética del tolmetín debidas a género [Granados-Soto, *et al*, 1999]. Entonces, y puesto que el tolmetín se emplea actualmente en la terapéutica [Insel, 1999], consideramos de interés extender nuestras observaciones sobre el efecto del género en la farmacocinética de este fármaco. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue comparar la farmacocinética del tolmetín, después de una administración oral de tolmetín a dos diferentes dosis, en ratas machos y hembras.

OBJETIVO

Debido a las descripciones de diferencias entre género en la farmacocinética y la respuesta farmacológica, se pretende definir la mejor opción, entre machos o hembras, en cuanto al tipo de animales a emplear en los protocolos experimentales.

HIPÓTESIS

Existen diferencias en la farmacocinética del tolmetín en ratas, administrado por vía oral, debidas al género.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales

En nuestro estudio se usaron ratas Wistar macho y hembra de 150-200 g de peso. El alimento fue retirado 12 horas antes de la iniciación del experimento, pero se permitió a los animales libre acceso de agua.

Fármacos y reactivos

El tolmetín fue generosamente donado por Laboratorios Cilag S.A. (México, D.F). La trometamina de ketorolac (usado como estándar interno) se obtuvo de Laboratorios Roche-Syntex (México, D.F). El acetonitrilo, de grado cromatográfico, se obtuvo de E. Merck (Darmstadt, Alemania). Todos los demás reactivos fueron de grado analítico. El agua empleada para preparar las soluciones fue obtenida usando un sistema Milli-Q Reagent Water System (Continental Water Systems, El Paso, TX, USA).

Determinación de las concentraciones sanguíneas de tolmetín

Las ratas fueron ligeramente anestesiadas con éter etílico. Entonces, se implantó quirúrgicamente un catéter de polietileno (una combinación de un PE-10 de diámetro interno de 0.28 mm y un diámetro externo de 0.61 mm y PE-50 un diámetro interno de 0.58 mm y un diámetro externo de 0.96 mm, Clay Adams, Parsippany, NJ, USA) dentro de la arteria caudal para la recolección de muestras sanguíneas, tal como fue previamente reportado [Granados-Soto *et al*, 1995b]. La concentración de tolmetín en muestras de sangre total se determinó por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR), usando ketorolac como estándar interno, empleando el método descrito por Flores-Acevedo *et al*, [1995].

Diseño del Estudio

Se formaron aleatoriamente cuatro grupos de 6 ratas cada uno (2 grupos de ratas machos y 2 de ratas hembras). Las ratas de los primeros grupo recibieron una dosis de 3.2 mg/kg. Las ratas de los siguientes grupos recibieron la dosis de 10 mg/kg. El tolmetín fue disuelto en solución salina y administrado por vía oral. Se tomaron muestras sanguíneas de 100 a 150 μ l a 0, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 120, 180, 240, 300 y 360 minutos después de la administración del fármaco. Las muestras sanguíneas fueron congeladas y almacenadas a -70°C hasta su análisis.

dosis fueron seleccionadas como ha sido previamente reportado, ya que estas producen un efecto antinociceptivo significativo [Flores-Acevedo *et al*, 1995].

Se observó que la vida media del tolmetín fue aproximadamente dos veces mayor en hembras que machos. Como consecuencia de esa vida media prolongada, los valores de ABC en hembras fueron mas altos en hembras que en machos. La depuración del tolmetín fue significativamente más baja en hembras que en machos. Estos resultados sugieren que la eliminación del tolmetín puede ser reducida en las hembras con respecto a los machos. Por otra parte, el hecho de que no se observaron diferencias significativas en la vida media, ni en la depuración entre las dosis a través de un mismo género, sugiere que la eliminación del tolmetín en ambos hembras y machos es lineal en este nivel de dosis. Aunque la información generada en este trabajo es insuficiente señalar el nivel del daño o diferencia en el mecanismo de eliminación del tolmetín, puede especularse que este sea a nivel genético. De hecho, es bien conocido que la actividad del citocromo P450 es mayor en machos que en hembras [Kato y Yamazoe, 1992]. Además, la presencia de formas específicas del género del citocromo P450 en ratas, referidas como P450-macho y P450-hembras, ha sido reportado en la literatura [Ryan, *et al*, 1984]. El citocromo P450 está involucrado en la biotransformación del tolmetín a sus metabolitos hidroxilados y carboxilados [Insel, 1995]. Por lo que es probable que las diferencias farmacocinéticas relacionadas al género observadas en la rata sean debidas a variaciones en la actividad de las isoformas del citocromo P450. Nuestros resultados sugieren que no existe diferencia en la absorción del tolmetín relacionadas al género, puesto que no existieron diferencias significativas entre hembras y machos en los parámetros C_{max} o en t_{max} .

Los presentes resultados confirman evidencias preliminares sobre la existencia de diferencias relacionadas al género en la eliminación del tolmetín, al menos en la rata. Resta por ser investigado, si estos resultados pueden ser extrapolados a otras especies, y son relevantes terapéuticamente para el caso de los humanos. Se ha señalado que los resultados de estudios en donde se proponen diferencias relacionadas al género en animales no deben ser directamente extrapoladas al humano, ya que el grado de tales diferencias puede variar entre especies [Harris *et al*, 1995]. Nosotros estamos de acuerdo con esta consideración. Los estudios en animales deben ser usados para ilustrar el hecho de que diferencias significativas en la disponibilidad fármaco pueden ocurrir en mamíferos y estimular futuras investigaciones de ciertos fármacos particulares en humanos. En vista de que los resultados aquí presentados, parece ser de interés examinar comparativamente la farmacocinética del tolmetín en hombres y mujeres. En todo caso, las diferencias halladas en este trabajo, permiten reconocer q

no se puede analizar de manera intercambiable la información FC o FD proveniente de ambos géneros, por ello se tomó la decisión de emplear solo ratas Wistar macho en futuros estudios.

CAPITULO III. INFLUENCIA DE LA HIPOALBUMINEMIA EXPERIMENTAL MODERADA SOBRE LA UNION A PROTEÍNAS PLASMÁTICAS *In Vivo* DEL TOLMETÍN.

RESUMEN

Diversas patologías que afectan el funcionamiento hepático, renal y aún la desnutrición grave, provocan una drástica disminución en los niveles circulantes de albúmina (ALB) en el torrente sanguíneo. Estas modificaciones pueden traducirse en cambios en las características (grado y/o afinidad) de unión a proteínas plasmáticas. Lo anterior, a su vez puede influir sobre la acción de los fármacos antiinflamatorios (farmacocinética o farmacodinámicamente). Por tanto, el objetivo del presente estudio fue caracterizar la influencia de los cambios en la concentración de proteínas plasmáticas sobre las propiedades de unión del tolmetin. En este trabajo se utilizó un procedimiento de plasmaféresis (-PLF-, 10 ml/kg x n=5; durante 16 h) en ratas Wistar macho para producir un cuadro de hipoalbuminemia moderada. En *pools* de plasma de rata sin manipulación se caracterizaron las propiedades de unión del tolmetin. De manera independiente, se modeló el tipo de unión del tolmetin en muestras plasmáticas procedentes de cursos temporales de dosis crecientes del antiinflamatorio (10, 56 y 100 mg/kg po). Con el modelo generado se evaluó la influencia de la hipoalbuminemia sobre las propiedades de unión del AINE, después de la administración de una dosis oral de 100 mg/kg. Lo anterior se realizó al comparar observaciones generadas en cursos temporales de concentración libre contra las predicciones del modelo. La disminución significativa en la concentración de albúmina después de la PLF (>25%) se tradujo en cambios no solo en el grado de unión (la unión se volvió dependiente de la concentración), sino también en la afinidad de la albúmina por el tolmetin (la constante de asociación disminuyó seis veces su valor). La relevancia de estos cambios sobre la farmacocinética y/o el efecto antiinflamatorio del tolmetin queda por ser estudiada.

INTRODUCCIÓN

La hipoalbuminemia es una manifestación clínica relativamente común a toda una diversidad de estados patológicos como cirrosis hepática, el síndrome nefrótico, enfermedades digestivas, largos períodos de ayuno, así como estadios prolongados de fase de recuperación postquirúrgica [Tozer, 1984, Zini *et al*, 1990]. En el ser humano, los niveles normales de albúmina varían de 40 a 75 g/L, mientras que en ratas este rango es de 30 a 80 g/L [Tozer, 1984; Matsuzawa *et al*, 1993]. La hipoalbuminemia, se caracteriza por una disminución superior al 25% de los niveles circulantes de albúmina plasmática. Esta reducción parece ser causada por un incremento en la permeabilidad capilar y una pérdida en la capacidad compensatoria de síntesis de la proteína de novo en el hígado. La trascendencia de estos cambios puede apreciarse dado que la albúmina contribuye de manera significativa a la presión oncótica del plasma, además es la principal proteína de unión y transporte de diversos aniones orgánicos tanto endógenos como exógenos [Guyton y Hall, 1998].

Diversos reportes sugieren que los cambios en la unión a las proteínas pueden alterar la disposición (y quizás el efecto farmacológico) de los fármacos, sobre todo de aquellos que se unen fuertemente a las proteínas plasmáticas tal como la mayoría de los antiinflamatorios no esteroideos. De hecho, se asume que solo el fármaco libre está disponible para difundir a través del endotelio y otras barreras biológicas, y producir un efecto farmacológico en el sitio de acción en tejidos extravasculares. Esto ha sido demostrado explícitamente en el caso de las sulfonamidas y otros antibióticos [Craig y Kunin, 1976], fenitoína [Kodama *et al*, 1998], warfarina [Yacobi y Levy, 1977, Peterson y Kwaan, 1986], y propranolol [Piquette-Miller y Jamali, 1995]. Sin embargo, otros autores sugieren que si bien la alteración de la unión a proteínas puede modificar algunas características farmacocinéticas, estos cambios no son lo suficientemente importantes para alterar la respuesta farmacológica [Du Souich *et al*, 1993].

En particular, en el caso de los AINEs mientras una disminución de la fracción unida de 0.99 a 0.98 puede parecer trivial a primera vista, este cambio representa un incremento al doble en la fracción libre, lo que podría ser clínicamente importante. Lo anterior cobra relevancia desde el punto de vista de las interacciones, ya que ha demostrado que el naproxen, y el tolmetin, entre otros AINEs son capaces de desplazar de sus sitios de unión sobre la albúmina a fármacos potencialmente tóxicos como la warfarina [Chan, 1995; Dasgupta y Volk, 1996].

Clínicamente, la determinación de la concentración libre debería ser empleada cuando la unión a proteínas plasmáticas es dependiente de las concentraciones del fármaco por encima del rango terapéutico, cuando se conoce alguna interacción a nivel de la unión a proteínas, o bajo un estado de enfermedad que donde se conozca que existe una alteración en la unión a las proteínas [Wright *et al.*, 1996]. No obstante que, muchos de los AINEs después de dosis clínicamente efectivas no alcanzan esas concentraciones, en el caso del naproxén y del tolmetín, se ha reportado que la fracción libre varía por factores de 6 y 2, respectivamente, a lo largo del rango terapéutico [Borgå y Borgå, 1997]. Mas aún, Pritchard *et al.*, [1984], reportaron que en pacientes urémicos, la fracción libre del tolmetín se incrementó de 2 a 15 veces. La razón de este incremento, sugieren los investigadores, se debió a una modificación en la constante de disociación.

Por todo lo mencionado anteriormente, en este trabajo se midió y caracterizó la fracción libre del tolmetín en estadios fisiopatológicos que conduzcan a una modificación de la unión, sea en la magnitud o en los parámetros que la determinan.

OBJETIVO

Evaluar la influencia de un estado de hipoalbuminemia moderado sobre los parámetros de unión del tolmetín a las proteínas plasmáticas.

HIPÓTESIS

La hipoalbuminemia moderada en ratas, inducida por un procedimiento experimental de plasmaféresis, modifica los parámetros de unión del tolmetín a las proteínas plasmáticas

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales.

Se emplearon ratas Wistar macho de 6 a 7 semanas de edad, con peso entre 200 y 250 g, las cuales se obtuvieron del bioterio del Departamento de Farmacología y Toxicología del CINVESTAV-IPN. Los animales tuvieron libre acceso a comida y agua, hasta 12 h previas al inicio de los experimentos. Los protocolos del estudio fueron diseñados siguiendo las recomendaciones del comité de ética e investigación del CINVESTAV-IPN para el uso y cuidado de animales de experimentación. Las ratas se anestesiaron con vapores de éter etílico y se implantaron catéteres de polietileno (una combinación de PE-10 y PE-50, con diámetro interno de 0.28 y 0.58 mm, respectivamente), en la arteria y vena caudal. Los catéteres se llenaron con una solución salina

heparinizada (20 UI/mL) para prevenir la coagulación. Después del procedimiento quirúrgico, las ratas se colocaron en cajas individuales.

Inducción del estado hipoalbuminémico.

Se empleó un procedimiento de plasmaféresis (PLF), para producir un cuadro de hipoalbuminemia moderada. Este procedimiento consistió en extraer sangre (10 ml/kg x 5, durante 16 h) de la arteria caudal y centrifugarla a 2500 rpm. El plasma se desechó y se reemplazó volumen a volumen con una solución Ringer-Lactato (Laboratorios Abbot, Mexico D.F.). El paquete sanguíneo más el Ringer se reinfundieron lentamente. Se desarrolló una batería de pruebas de la actividad hepática y renal para evaluar la inocuidad del procedimiento de plasmaféresis. Se evaluaron las concentraciones de albúmina plasmática por el método de verde de bromocresol, durante la PLF y las 4 h siguientes (protocolo de farmacocinética). Se consideró que los animales presentaban hipoalbuminemia moderada si la concentración plasmática de albúmina se habían reducido entre 20 y 30% respecto a su valor basal.

Diseño experimental.

Los animales (n=24) se asignaron aleatoriamente en cuatro grupos experimentales. A las ratas sin PLF se les retiró el alimento 12 h antes de la administración del fármaco, pero tuvieron libre acceso al agua. Estos animales fueron administrados oralmente con tolmetin en dosis de 10, 56 y 100 mg/kg (grupos I a III, respectivamente). Un grupo adicional sometido a PLF, recibió una dosis oral de tolmetin de 100 mg/kg (grupo IV). El fármaco se administró en un volumen igual a 4 mL/kg. Se tomaron muestras de sangre arterial de 400 μ L (n=8) se tomaron a tiempos seleccionados (0, 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 y 6 h). El mismo volumen que se extrajo de sangre fue reemplazado con solución salina estéril. El plasma se separó por centrifugación y se congeló (-40 °C), hasta su análisis.

Determinación de la concentración total y libre de tolmetín.

Para caracterizar los parámetros de unión a proteínas plasmáticas del tolmetin *in vitro*, se empleó un *pool* de plasma de varias ratas, sometidas a una manipulación semejante a la de los grupos experimentales de farmacocinética. Se prepararon diferentes diluciones de tolmetin en este plasma (2.5-750 μ g/mL, 7.9-2380 μ M), a partir de una solución *stock* de 1 mg/mL. Muestras de 100 μ L de estas diluciones se sometieron a un proceso de ultrafiltración para obtener la concentración libre de tolmetín. Brevemente, las muestras de plasma se colocaron en un dispositivo Amicon (filtro de

celulosa regenerada con tamaño de corte de 6000 D). Posteriormente se centrifugaron a temperatura ambiente a 4500 rpm x 20 minutos. 20 μL del ultrafiltrado se mezclaron con 10 μL del E.I. (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) y se inyectaron 20 μL al sistema cromatográfico. La unión no específica del tolmetin al dispositivo de ultrafiltración se determinó añadiendo 100 μL de una solución acuosa de tolmetin al dispositivo Amicon y sometiendo a un esquema de centrifugación semejante al de las muestras plasmáticas. Finalmente, se cuantificó la concentración del ultrafiltrado y del residuo sin filtrar. Las mediciones de la concentración plasmática total y libre de tolmetin se realizaron empleando el método de cromatografía líquida previamente reportado por Borgå y Borgå [1997], con algunas modificaciones que se describen en el capítulo IV de esta tesis.

Análisis de datos

Para caracterizar los parámetros de unión del tolmetin a las proteínas plasmáticas tanto *in vitro* como *in vivo*, se calculó la concentración de tolmetin unido:

$$C_b = C_t - C_u$$

donde C_b : concentración de fármaco unido

C_t : concentración de fármaco total

C_u : concentración de fármaco Libre

Por otra parte, se calculó la fracción libre de tolmetin (f_u) según:

$$f_u = C_u / C_t$$

En el caso de los parámetros de unión, Behm y Wagner [1981] propusieron una serie de relaciones matemáticas para poder estimar la afinidad (vista como k_d , constante de disociación del complejo fármaco-proteína), y el número de clases de sitios de unión (n), y simultáneamente evaluar la influencia del cambio en la concentración de albúmina. Estas relaciones se definen según las ecuaciones 1 a 3:

$$C_b = \sum_{i=1}^k N_i \frac{[ALB] C_u}{K_d + C_u} \quad (1)$$

$$C_u = a \cdot C_p \cdot b \cdot C_p^n \quad (2)$$

Por otra parte, el ajuste de los datos de concentración total y libre en *pools* de plasma cargados con concentraciones conocidas de tolmetin, empleando la ecuación 3, permitió obtener los parámetros de unión del AINE que se presentan en la tabla 3-1. Estos parámetros se encuentran en el orden de magnitud y tipo de unión reportados por otros investigadores para el mismo tipo de experimentos *in vitro*, con plasma y aún con soluciones de albúmina sérica [Borgá y Borgá, 1997; Behm y Wagner, 1981].

Tabla 3-1. Parámetros de unión a proteínas plasmáticas del tolmetin *in vitro* según la ecuación 3 (véase texto).

	ESTIMADO	E.E.
N1	0.25	0.018
N2	2.51	0.048
Kd1 (μM)	9.8	1.85
Kd2 (μM)	202	18
a	2.5×10^{-2}	3.7×10^{-3}
b	5.7×10^{-5}	6.3×10^{-6}

La representación gráfica del fármaco unido en función del fármaco libre, de las observaciones, así como de la predicción del modelo se muestran en la figura 3-2. Puede apreciarse que el modelo ajustó adecuadamente los datos experimentales.

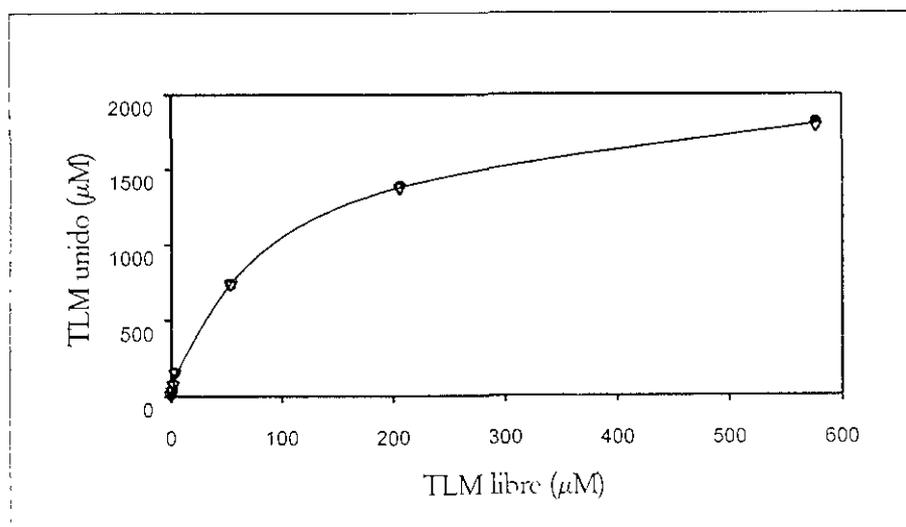


Figura 3-2. Representación gráfica del modelo unión a proteínas plasmáticas *in vitro* del tolmetin (línea continua). Los símbolos son las observaciones experimentales medias ($n=6$) \pm el error estándar del promedio.

Sin embargo, cuando los parámetros de este modelo se emplearon para predecir la unión *in vivo*, después de una administración oral de tolmetin, se observó que las predicciones fueron erróneas, lo que nos hizo pensar que tal como lo han propuesto diversos autores, las características de unión *in vivo*, pueden diferir radicalmente de aquellos resultados *in vitro*, debido a que factores tales como el tiempo de equilibrio con el sistema también difieren [Du Souich *et al*, 1993]. Por tanto, se procedió a re-analizar las características de la unión, empleando en esta ocasión los datos de los cursos temporales de concentración total y libre, después de la administración de dosis crecientes de tolmetin en ratas intactas, así como en aquellas sometidas a PLF.

Primeramente, se observó que las dos dosis mas bajas de tolmetin mostraron que la fracción libre era aproximadamente constante en este rango de dosis. Sin embargo, en el grupo administrado con 100 mg/kg fue evidente que había una saturación en la unión dependiente de tiempo (Figura 3-3). Lo anterior sugiere que en dosis eficaces en modelos experimentales (100 mg/kg), el tolmetin exhibe una cinética de unión a proteínas no lineal. Como era de esperarse, cuando la concentración de albúmina disminuyó (grupo de ratas con PLF), la fracción libre en el grupo de ratas hipalbuminémicas se incrementó de manera muy pronunciada e independiente del tiempo de muestreo (Figura 3-3).

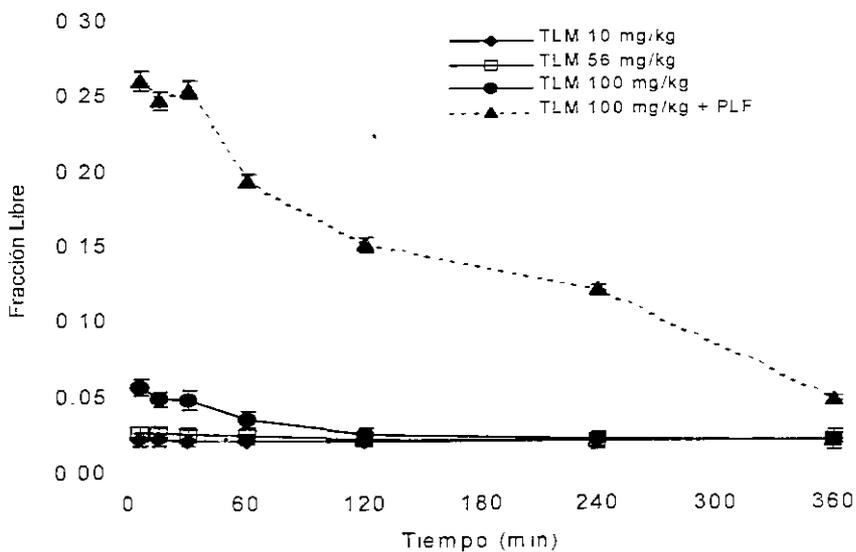
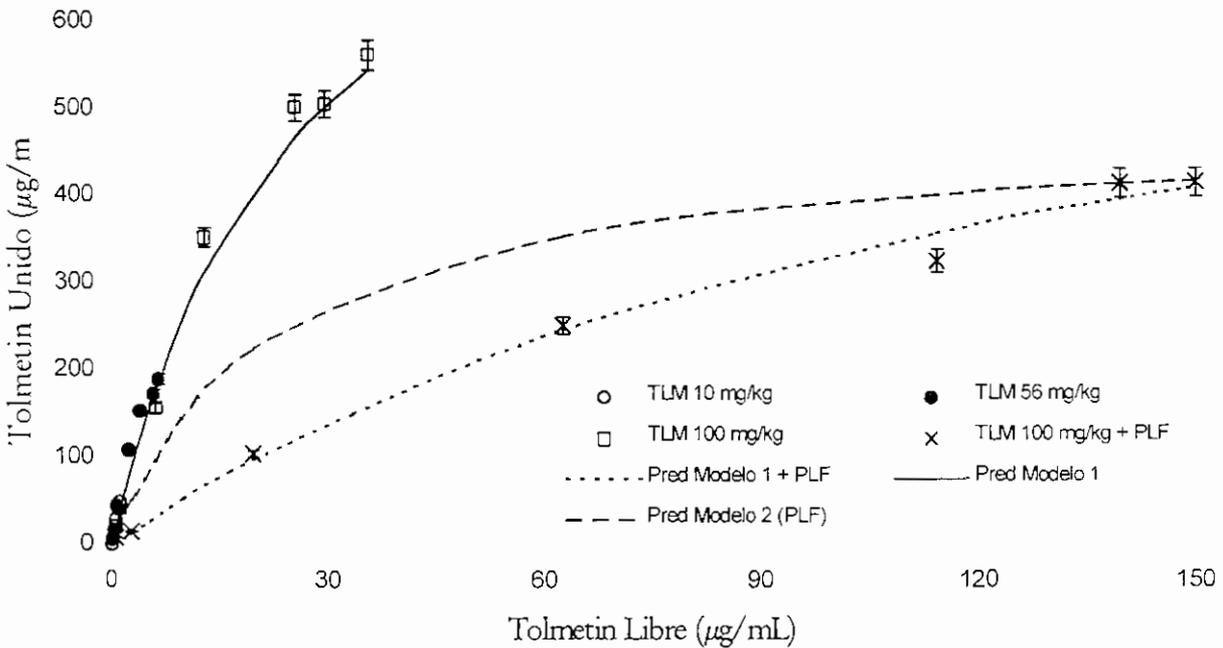


Figura 3-3. Curso temporal de la fracción libre del tolmetin en ratas sin manipulación, así como de ratas hipalbuminémicas. (los datos se presentan como el promedio de las observaciones ($n=6$) \pm el error estándar del promedio.)

Al analizar esta información fue interesante notar que en los datos de unión *in vivo* ya no fue necesario un modelo que involucrara dos distintas clases de sitios de unión con diferentes afinidades. Por tanto, la ecuación 3 se modificó para calcular solo un juego de parámetros. Entonces, el modelo de unión generado con los datos de ratas intactas se denominó Modelo 1. La ecuación que define a este modelo tiene la forma siguiente:

$$C_u = \frac{-(1 + N K_A [ALB] - K_A C_p) + \{(1 + N K_A [ALB] - K_A C_p)^2 + 4 K_A C_p\}^{1/2}}{2 K_A} \dots\dots(4)$$

Donde N es el número de sitios de una sola clase, K_A es la constante de afinidad y es el inverso de K_d , C_p es la concentración total de tolmetin en plasma y $[ALB]$ es la concentración de albúmina plasmática.



hipoxilaminónicas (los símbolos son las observaciones promedio \pm su error estándar, las líneas son las predicciones de los modelos desarrollados - ver texto -).

Los resultados de este nuevo ajuste permitieron apreciar que la constante de disociación única en este modelo *in vivo* es aproximadamente dos veces menor que la obtenida para la clase de sitios de alta afinidad en los experimentos *in vitro*. Sin embargo, de nueva cuenta al tratar de simular los

resultados provenientes del grupo con PLF utilizando el Modelo 1, la diferencia en la concentración de albúmina parece no ser suficiente para explicar la diferencia en la fracción libre observada (Figura 3-4).

Por tanto, fue necesario estimar nuevos parámetros para el caso de los datos de unión en ratas hipoalbuminémicas (Modelo 2), empleando la misma ecuación 4. De la comparación entre los parámetros obtenidos para el Modelo 2, se evidenció que además de la disminución en la concentración de albúmina, el incremento en la fracción libre en el grupo PLF, puede ser originada por una disminución en la afinidad de la albúmina (Tabla 3-2).

Tabla 3-2. Parámetros de unión a proteínas plasmáticas del tolmetín in vivo de los modelos 1 y 2, para ratas intactas y con hipoalbuminemia (véase texto).

Parámetro	Ratas Intactas	Ratas Hipoalbuminémicas
	Modelo 1 Estimado (Error Estándar)	Modelo 2 Estimado (Error Estándar)
N	0.98 (0.05)	1.58 (0.77)
Kd (μM)	21.87 (2.11)	131.58 (38.09)

Finalmente, en la Figura 3-5 se puede apreciar de manera global, el efecto de saturación a las proteínas plasmáticas (visto como fracción libre) que de manera normal presenta el tolmetín en dosis terapéuticas, y que es exacerbado cuando el organismo se encuentra en un estado de hipoalbuminemia.

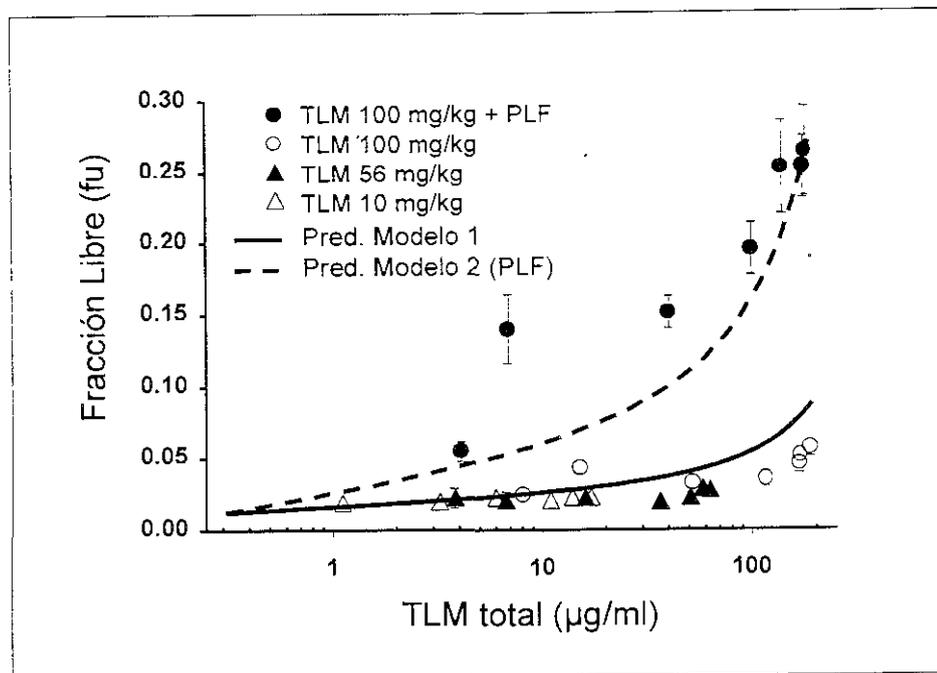


Figura 3-5. Fracción libre como función de la concentración total de tolnetrán en plasma a lo largo del rango terapéutico sugerido para el AINE (los símbolos son las observaciones promedio \pm su error estándar, las líneas son las predicciones de los modelos desarrollados - ver texto -).

DISCUSIÓN

En la circulación sistémica la mayoría de los fármacos se encuentran unidos a la albúmina plasmática, y aunque es generalmente admitido que solo la fracción libre es capaz de ejercer acciones farmacológicas [Tozer, 1984; Du Souich *et al*, 1993], la evidencia experimental de las repercusiones de la hipoalbuminemia sobre la farmacocinética y la farmacodinamia de los AINEs es limitada. Probablemente, lo anterior sea debido a la carencia de modelos experimentales “limpios” que permitan evaluar los cambios en la concentración de albúmina sin que exista una patología subyacente. En este trabajo se utilizó un procedimiento de plasmaféresis para producir una hipoalbuminemia moderada [Pichette *et al*, 1996]. Este procedimiento consistió en el recambio de plasma por solución Ringer y resultó en una disminución gradual de la concentración de albúmina plasmática que alcanzó significancia después de 12h. Esta disminución fue superior al 25% (hipoalbuminemia moderada) a las 16 horas. Si no se realiza ningún otro recambio de plasma, la reducción de la concentración de albúmina permanece constante durante el período de 6 horas que dura el experimento de farmacocinética. La PLF no provocó pérdida significativa en el peso de los animales, ni alteración en la función renal o hepática (datos no mostrados).

Por otra parte, el ajuste de los datos de concentración total y libre en *pools* de plasma cargados con concentraciones conocidas de tolmetin, empleando la ecuación 3, permitió obtener los parámetros de unión del AINE. Estos parámetros se encuentran en el orden de magnitud y tipo de unión reportados por otros investigadores para el mismo tipo de experimentos *in vitro*, con plasma y aún con soluciones de albúmina sérica [Borgå y Borgå, 1997; Behm y Wagner, 1981].

Diversos autores han cuestionado la utilidad de los parámetros de unión que se obtienen de experimentos *in vitro*, ya que las condiciones controladas del laboratorio pueden no considerar diversos otros factores que ocurren y modifica el equilibrio fármaco-proteína *in vivo*. En efecto, en este trabajo, los parámetros de unión que se obtuvieron *in vitro*, generaron predicciones erróneas al pretender predecir la unión *in vivo* después de la administración oral de tolmetin. Probablemente, tal como se han propuesto, las características de unión *in vivo*, pueden diferir radicalmente de aquellos resultados *in vitro*, debido a que factores tales como el tiempo de equilibrio con el sistema también difieren [McElnay y D'Arcy, 1983; Lin *et al*, 1987].

Al re-analizar las características de la unión, empleando en esta ocasión los datos de los cursos temporales de concentración total y libre *in vivo*, se observó que las dos dosis mas bajas de tolmetin exhibieron una fracción libre aproximadamente constante. Sin embargo, en el grupo administrado con 100 mg/kg fue evidente que había una saturación en la unión dependiente de tiempo. Esta dosis ha mostrado ser eficaz en modelos experimentales de analgesia en la rata [Flores-Murrieta *et al*, 1998]. Lo anterior sugiere que en dosis eficaces en modelos experimentales el tolmetin debe exhibir una cinética de unión a proteínas no lineal. Como era de esperarse, cuando la concentración de albúmina disminuyó, en el grupo con PLF, la fracción libre en el grupo de ratas hipoalbuminémicas se incrementó de manera muy pronunciada e independiente del tiempo de muestreo.

Al analizar esta información con un modelo que supone una sola clase de sitios de unión, los resultados de este nuevo ajuste permitieron apreciar que la constante de disociación única en este modelo *in vivo* es aproximadamente dos veces menor que la obtenida para la clase de sitios alta afinidad en los experimentos *in vitro*. Sin embargo, fue necesario desarrollar un modelo adicional para explicar la diferencia en la fracción libre observada en el grupo con PLF. De la comparación entre estos dos modelos, se propone que además de la disminución de la concentración de albúmina, el incremento en la fracción libre en el grupo PLF, puede ser originada por una

disminución en la afinidad de la albúmina. Este tipo de cambios en las propiedades de unión del tolmetin se han encontrado en pacientes urémicos, en los que la concentración de albúmina se ve disminuida [Pritchard *et al*, 1984].

Durante mucho tiempo se ha asumido que la unión a las proteínas plasmáticas limita el acceso de los AINEs al espacio intersticial perivascular [Lin *et al*, 1987]. Esta posibilidad es una consideración importante en la terapia dado que la respuesta clínica a los AINEs debería corresponder con las concentraciones dentro del tejido inflamado que a aquellas medidas en el sistema vascular. Si bien, Levy especuló teóricamente [1976], que incrementos en la unión a proteínas pueden modificar la intensidad y la duración de la respuesta, Simkin *et al*, [1993], han propuesto que la trascendencia de la unión a proteínas de los AINEs es mas bien limitada ya que estos fármacos en general tienen elevados grados de unión (>90%), y una variación en la unión debería conducir a incrementos en la vida media de eliminación, lo cual no se ha demostrado. En nuestro trabajo, un estado de hipoalbuminemia moderado incrementó la fracción libre del tolmetin en mas de 500%, provocando además cambios en las propiedades de unión del tolmetin. Ahora bien, La relevancia de estos cambios sobre la farmacocinética y/o el efecto antiinflamatorio del tolmetin queda por ser estudiada.

CAPITULO IV. ANÁLISIS POBLACIONAL DE LA FARMACOCINÉTICA DEL TOLMETÍN EN RATAS

RESUMEN

Este estudio se diseñó para establecer la relación *in vivo* entre la disposición del tolmetín y los cambios en su unión a las proteínas plasmáticas. Se administró tolmetín 10, 56 y 100 mg/kg po. a ratas Wistar macho de 200-250 g (n=6). En un grupo adicional se utilizó un procedimiento de plasmaféresis (PLF) para inducir un estado de hipoalbuminemia moderado y posteriormente se administró tolmetín po 100 mg/kg. Se determinaron la concentración plasmática total y la fracción libre (f_u) del tolmetín, así como el nivel de albúmina durante un período de 6 h después de la administración del fármaco. Un modelo abierto de dos compartimentos fue suficiente para describir las observaciones de las dos dosis mas bajas. Sin embargo, en la dosis superior se observó no linealidad en el área bajo la curva normalizada. Las mediciones de f_u en el grupo PLF confirmaron la saturación en el mecanismo de eliminación del tolmetín. Entonces, se desarrolló un modelo poblacional mas complejo, que incluyó una eliminación tipo Michaelis-Menten para ajustar las observaciones de todos los grupos, empleando el programa NONMEM. Este modelo consideró que la absorción es un proceso de primer orden (K_a), y que la variabilidad interindividual estaba asociada al volumen aparente de distribución y a la constante de Michaelis-Menten (K_m). Los estimados del modelo fueron $K_a = 0.58 \pm 0.11 \text{ min}^{-1}$, $V_d = 0.12 \pm 0.01 \text{ L}$, $V_{max} = 0.63 \pm 0.22 \text{ mg} \cdot \text{min}^{-1}$, y $K_m = 342 \pm 147 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Al utilizar la regresión bayesiana con los parámetros poblacionales como estimados *a priori*, el modelo fue capaz de predecir adecuadamente los cursos temporales individuales de la concentración total y libre, tanto en las ratas control como en las hipoalbuminémicas.

INTRODUCCIÓN

El tolmetín [1-metil-(5-p-toluil-)pirrol-2-ácido acético], es un fármaco antiinflamatorio no esterooidal (AINE), que se ha empleado durante mucho tiempo en el tratamiento de la artritis reumatoide, osteoartritis y episodios de gota [Cassidy, 1999]. La farmacocinética (FC) del tolmetín en roedores está caracterizada por una rápida absorción después de una dosis oral, así como de una extensa unión a las proteínas plasmáticas (>90%) [Sabater *et al*, 1992]. Se ha reportado una vida media corta (inferior a las 3 horas) y dependiente del género [Granados-Soto *et al*, 1996, Jimenez *et al*, 1999]. Sin

embargo, existe controversia acerca de la distribución de este AINE ya que se ha reportado que a dosis inferiores a 10 mg/kg, la farmacocinética puede ser caracterizada con un modelo de un compartimento y eliminación lineal [Migdalof *et al*, 1976], mientras que cuando se administró una dosis de 32 mg/kg fue necesario un modelo de dos compartimentos con eliminación tipo Michaelis-Menten [Sabater *et al*, 1992; Ayres *et al*, 1977].

En ese sentido, Grindel *et al*, [1979], reportó un incremento significativo en la depuración renal del tolmetín y de su principal metabolito oxidado en pacientes artríticos. Estos investigadores propusieron que fue el incremento en el volumen de distribución secundario a una disminución en la unión a proteínas plasmáticas, la explicación al incremento en la depuración. Además, existen consideraciones teóricas que sugieren que la alteración en la unión a proteínas plasmáticas pueden ser un factor importante en la determinación de la farmacocinética y la farmacodinamia de fármacos con una elevada afinidad por las proteínas, así como un radio de extracción bajo [Mackichan, 1992; Toft, 1984]. Finalmente, debe señalarse que existe poca información relativa al modelaje de la influencia de las alteraciones en la unión a proteínas sobre los parámetros FC y su variabilidad, así como la utilidad de estos modelos en la predicción del curso temporal individual de la concentración de los fármacos.

Por ello, el objetivo de este trabajo fue describir la farmacocinética del tolmetín bajo condiciones de control, así como bajo un estado disminuido en la concentración de albúmina plasmática (hipoalbuminemia moderada), empleando modelos farmacocinéticos poblacionales. El modelo propuesto refleja y describe la influencia de la unión a proteínas sobre los parámetros FC del tolmetín y establece la variabilidad interindividual asociada con esos parámetros. Además confirma que la FC del tolmetín presenta una saturación en la eliminación.

OBJETIVO

Evaluar a través del enfoque poblacional, la influencia de la hipoalbuminemia en la farmacocinética del tolmetín en ratas.

HIPÓTESIS

El incremento en la fracción libre del tolmetín, subsecuente a un estado de hipoalbuminemia moderada, se traduce en cambios en los parámetros farmacocinéticos del AINE administrado por vía oral.

MATERIAL Y MÉTODOS

Reactivos

El tolmetín y la carragenina (fracción lambda) se compraron a Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). El ketorolac (-sal de trometamina-), empleado como estándar interno fue gentilmente donado por Laboratorios Roche-Syntex (México, D.F.). El acetonitrilo, de grado cromatográfico, se obtuvo de E. Merck (Darmstadt, Alemania). Todos los demás reactivos fueron de grado analítico. El agua empleada para preparar las soluciones fue obtenida usando un Milli-Q Reagent Water System (Continental Water Systems, El Paso, TX, U.S.A.).

Animales

Se emplearon ratas Wistar macho de 6 a 7 semanas de edad, con peso entre 200 y 250 g, las cuales se obtuvieron del bioterio del Departamento de Farmacología y Toxicología del CINVESTAV-IPN. Los animales se mantuvieron bajo condiciones estándar de laboratorio, con ciclos de luz-obscuridad de 12 h. Las ratas tuvieron libre acceso a comida y agua, hasta 12 h previas al inicio del protocolo de farmacocinética. Después del procedimiento quirúrgico, las ratas se colocaron en cajas individuales. Los protocolos del estudio fueron diseñados siguiendo las recomendaciones del protocolo de Helsinki para el uso y cuidado de animales de experimentación.

Procedimientos quirúrgicos

Las ratas se anestesiaron con vapores de éter etílico y se implantaron catéteres de polietileno (una combinación de PE-10 y PE-50, con diámetro interno de 0.28 y 0.58 mm, respectivamente), en la arteria y vena caudal. Los catéteres se llenaron con una solución salina heparinizada (20 UI/mL) para prevenir la coagulación.

La hipoalbuminemia se produjo por un procedimiento de plasmaféresis (PLF). Se extrajo sangre (10 ml/kg x 5, durante 16 h) de la arteria caudal y se centrifugó a 2500 rpm. El plasma se desechó y se reemplazó volumen a volumen con una solución Ringer-Lactato (Laboratorios Abbot, Mexico D.F.). El paquete sanguíneo mas el Ringer se reinundieron lentamente. Se evaluaron las concentraciones de albúmina plasmática por el método de verde de bromocresol, durante la PLF y las 4 h siguientes (protocolo de farmacocinética). Se consideró que los animales presentaban hipoalbuminemia moderada si la concentración plasmática de albúmina se habían reducido al menos un 25% respecto a su valor basal

Diseño experimental

Los animales ($n=24$) se asignaron aleatoriamente en cuatro grupos experimentales. A las ratas sometidas a PLF se les retiró el alimento 12 h antes de la administración del fármaco, pero tuvieron libre acceso al agua. Estos animales fueron administrados oralmente con tolmetín en dosis de 10, 56 y 100 mg/kg (grupos I a III, respectivamente). Un grupo adicional sometido a PLF, recibió una dosis oral de tolmetín de 100 mg/kg (grupo IV). El fármaco se administró en un volumen igual a 4 mL/kg. Se tomaron muestras de sangre arterial de 400 μ L ($n=8$) a tiempos seleccionados (0, 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 y 6 h). El mismo volumen que se extrajo de sangre fue reemplazado con solución salina estéril. El plasma se separó por centrifugación y se congeló ($-40\text{ }^{\circ}\text{C}$), hasta su análisis.

Determinación de la concentración total y libre de tolmetín

La medición de la concentración plasmática total de tolmetín se realizó empleando el método de cromatografía líquida previamente reportado por Borgå y Borgå [1997], con algunas modificaciones. Brevemente, a las muestras plasmáticas (10 μ L) se adicionaron 20 μ L de metanol conteniendo estándar interno (ketorolac) a una concentración de 50 μ g/mL. Esta mezcla se diluyó a 500 μ L con buffer de fosfatos (pH=7) y se agitó hasta homogenizarse. Posteriormente, se inyectó una alícuota de 20 μ L al sistema cromatográfico.

La fracción libre se obtuvo por ultrafiltración y la concentración libre se determinó por cromatografía líquida. Brevemente, las muestras de plasma (100 μ L) se colocaron en un dispositivo Amicon (filtro de celulosa regenerada con tamaño de corte de 6000 D). Posteriormente se centrifugaron a temperatura ambiente a 4500 rpm x 20 minutos. 20 μ L del ultrafiltrado se mezclaron con 10 μ L del E.I. (50 μ g/mL) y se inyectaron 20 μ L al sistema cromatográfico. La unión específica del tolmetín al dispositivo de ultrafiltración se determinó añadiendo 100 μ L de una solución acuosa de tolmetín al dispositivo Amicon y sometiendo a un esquema de centrifugación semejante al de las muestras plasmáticas. Finalmente, se cuantificó la concentración del ultrafiltrado y del residuo sin filtrar con el método cromatográfico descrito anteriormente.

El sistema cromatográfico consistió de una bomba Waters 510 (Waters Assoc., Milford, MA, USA), un inyector Rheodyne 7725i con asa de 20 μ L (Cotati, CA, USA), y un detector de longitud de onda variable Waters 484 fijo a 231 nm. La separación se realizó sobre una columna Symmetry C_{18} de 150 x 3.9 mm (d.i.) y 4 μ m de tamaño de partícula (Waters Assoc., Milford, MA, USA), empleando como

fase móvil una mezcla de ácido fosfórico 1 mM y acetonitrilo (60:40 v/v). La fase móvil se mantuvo a un flujo constante de 1.6 mL/min, y a temperatura ambiente. La señal mostró linealidad en el rango de 0.09 - 20 µg/mL. Las muestras que mostraron una señal mayor al límite superior fueron convenientemente diluidas. Los coeficientes de variación intra- en inter- ensayo fueron inferiores al 10 y 11 %, respectivamente.

Análisis de Datos

Los cursos temporales de la concentración total y libre del fármaco se analizaron con un enfoque poblacional, empleando el método de primer orden implementado en el programa NONMEM [Beal y Sheiner, 1992]. Este enfoque hace posible el ajuste simultáneo de los datos de todos los individuos, describiendo la tendencia media de la población y los perfiles individuales, así como una estimación de la variabilidad inter-individual y del error residual.

La variabilidad inter-individual se ajustó empleando modelos exponenciales. La variabilidad residual se modeló usando un modelo de coeficientes de variación constantes para las concentraciones plasmáticas de tolmetín.

La selección del modelo se basó en el análisis exploratorio de gráficas de bondad de ajuste, realizado con el programa Xpose [Jonsson y Karlsson, 1999], los estimados de los parámetros y sus intervalos de confianza. El valor mínimo de la función objetivo (OBJ) proporcionada por NONMEM también se empleó como un criterio de selección de modelo. La diferencia en OBJ entre dos modelos hierárquicos se distribuye aproximadamente en forma de una chi-cuadrada; se empleó un valor de significancia de $p < 0.05$. Los resultados del análisis de datos se presentan como el valor estimado y error estándar relativo. Los estimados de la variabilidad inter-individual y de la variabilidad residual se expresan como coeficientes de variación (CV, %).

Modelos Farmacocinéticos. Las propiedades de disposición del tolmetín se caracterizaron empleando modelos compartimentales. Se evaluaron diferentes modelos de absorción, de primer orden y como una administración pseudo-intravenosa. Se evaluó la posible influencia de la alteración de la unión a las proteínas plasmáticas sobre el volumen de distribución y la depuración, considerando la fracción libre como un predictor de la concentración libre a partir de la concentración de albúmina.

RESULTADOS

La representación gráfica del curso temporal de la concentración plasmática total (C) del tolmetín (Figura 4-1A) pone de manifiesto que la absorción del AINE es muy rápida, prácticamente no hay puntos experimentales en esa fase en ninguna de las dosis. Interesantemente, parece haber una saturación en la disposición del fármaco, ya que el pico de concentración en los grupos III y IV no guardan correspondencia con el de los grupos I y II. Por otra parte, la C decae con una cinética aparentemente monoexponencial. La gran diferencia en el pico y el área bajo la curva de concentración libre (C_u) entre los grupos III y IV, y entre ellos respecto a los otros evidencia además la no linealidad del tolmetín a dosis altas, y parecería indicar que es el mecanismo de unión a proteínas el responsable de la no linealidad (Figura 4-1B). La diferencia en el curso temporal de la fracción libre (Figura 4-1C) muestra que la saturación en la unión a proteínas es dosis y tiempo dependiente, hasta la dosis de 100 mg/kg. Sin embargo, cuando se indujo hipoalbuminemia la fracción libre cambia consistentemente a lo largo de todo el intervalo de muestreo.

Cuando se evaluó el área bajo la curva normalizada por la dosis (ABCnorm) de C (Figura 4-2), se puso de manifiesto que además de la saturación en el mecanismo de unión, podría existir saturación en el mecanismo de eliminación, ya que tanto el grupo de 100 mg/kg como el grupo de 100 mg/kg + PLF, son significativamente mayores que los grupos administrados con dosis bajas de tolmetín.

A partir de las observaciones anteriores, los resultados de concentración plasmática del tolmetín se estudiaron mediante modelos compartimentales utilizando la aproximación poblacional. En principio se analizaron los resultados obtenidos de concentración plasmática total (unida + libre) tras la administración de tolmetín a ratas sanas en dosis orales de 10, 56 ó 100 mg/kg, empleando la siguiente estrategia:

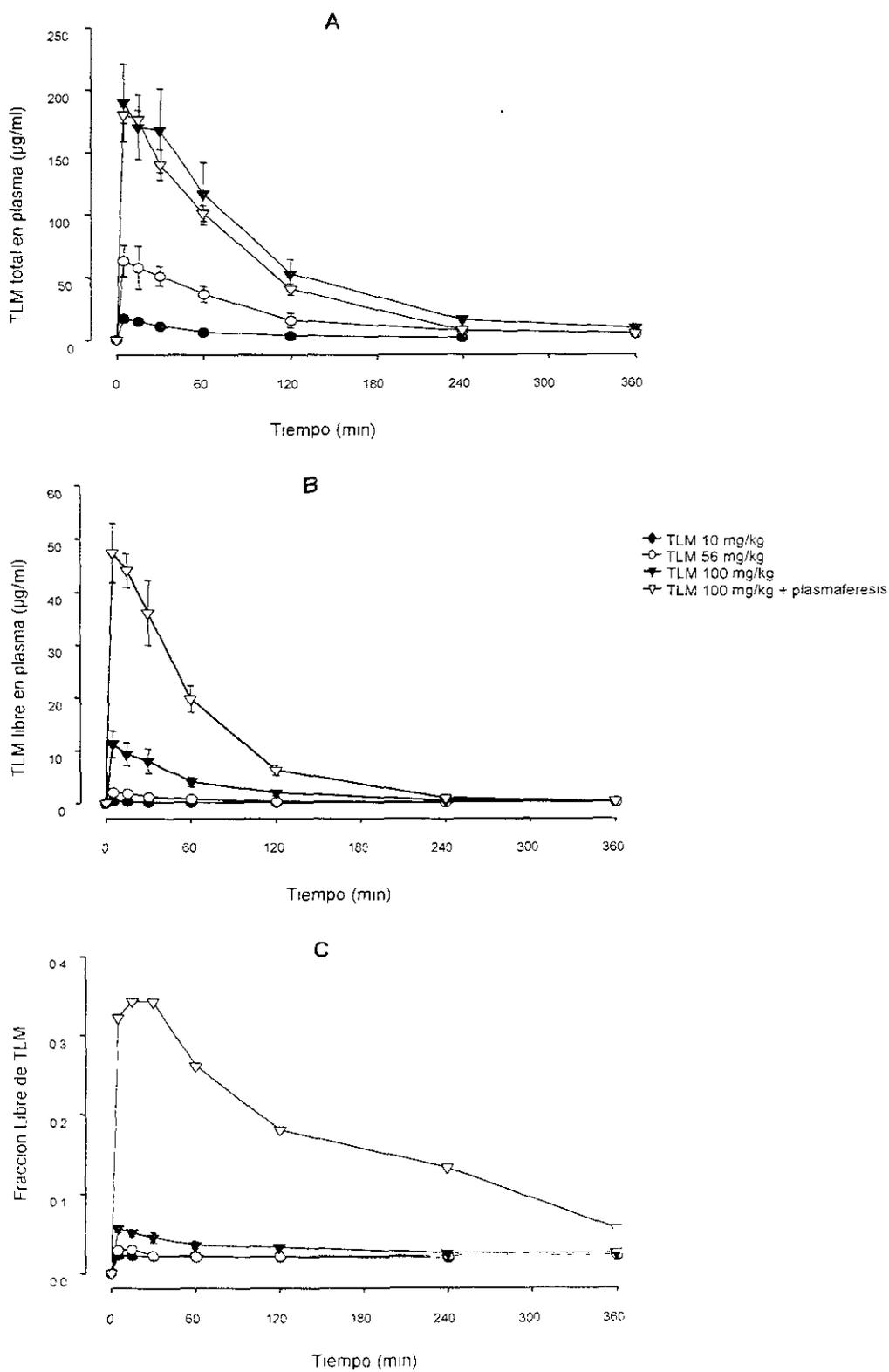


Figura 4-1. Curso temporal promedio de la concentración plasmática total (A), libre (B); y de la fracción libre (C) de tobramida en ratas "mixtas" e hipodermiomórficas (PI F) (los símbolos representan el promedio \pm error estándar)

1. Una vez descrita la cinética de las concentraciones plasmáticas totales (C) de tolmetín, incorporaron en el análisis los valores de concentración de fármaco libre en plasma (Cu). Los valores de Cu predichos a cada tiempo fueron obtenidos a partir del producto del valor observado de f_u y del valor predicho de C.
2. Por último, se añadieron tanto los valores de C como de Cu de los animales que recibieron 1 mg/kg de tolmetín y sufrieron una plasmáferesis.

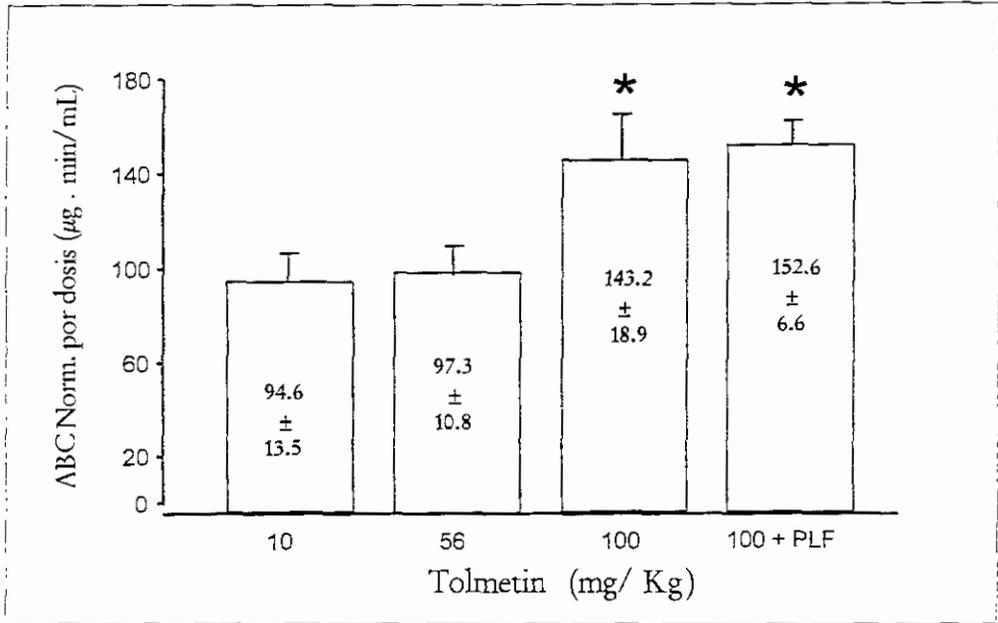


Figura 4-2. Evidencia de no linealidad en la farmacocinética del tolmetín en ratas.

Inicialmente, el modelo que mejor describió las observaciones experimentales de las dosis bajas fue un modelo abierto de un compartimento convencional donde la absorción era descrita mediante un proceso de primer orden. Sin embargo, la falta de predictibilidad para la dosis mayor hizo necesario proponer un modelo más complejo que explicara la disposición del fármaco. Después de evaluar diversos modelos, se encontró que el más adecuado para nuestros datos resultó ser uno con absorción de primer orden, donde la disposición del fármaco en el plasma se explica mediante un compartimento y la eliminación sigue una cinética de Michaelis-Menten. La variabilidad interindividual fue asociada al volumen aparente de distribución y a la constante de Michaelis-Menten. La variabilidad intraindividual o residual en C y Cu se describió mediante un modelo

error proporcional con diferentes estimados para los dos tipos de observaciones (C ó Cu). La estructura del modelo fue la siguiente:

$$\frac{dA(1)}{dt} = -K_{a_i} + A(1) \dots \dots \dots (1)$$

$$\frac{dA(2)}{dt} = K_{a_i} * A(1) - \frac{V_{max_i}}{K_{m_i} + (A(2)/V_i)} * A(2) \dots \dots \dots (2)$$

Donde:

$dA(1)/dt$: la velocidad a la cual una cantidad de tolmetín (A) pasa desde el compartimento de absorción al compartimento central; $dA(2)/dt$: es la velocidad a la cual una cantidad de tolmetín (A), se elimina desde el compartimento central. K_{a_i} : es la constante de velocidad de absorción de primer orden en el *i*-ésimo individuo; V_{max} : es la velocidad máxima a la cual puede ser eliminado el tolmetín en el órgano depurador del *i*-ésimo individuo; K_m : es la constante de Michaelis-Menten para eliminación de tolmetín en el *i*-ésimo individuo; y V_i : es el volumen aparente de distribución del tolmetín en *i*-ésimo individuo.

Tabla 4-1. Estimados poblacionales de los parámetros farmacocinéticos del tolmetín po, según el modelo de eliminación tipo Michaelis-Menten.

Parámetro	Estimado	Variabilidad Interindividual
$K_a(\text{min}^{-1})$	0.58 (19)	NE
V (L)	0.12 (8)	29 (42)
$V_{max}(\text{mg} \cdot \text{min}^{-1})$	0.63 (36)	NE
$K_m (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	342 (43)	33 (34)
Variabilidad residual en C	24 (14)	NA
Variabilidad residual en Cu	1.2 (15)	NA

Los estimados de variabilidad interindividual y residual vienen expresados como coeficiente de variación (CV%). Entre paréntesis aparecen los estimados de la precisión para cada parámetro expresados también como CV%. NE, no estimado por el modelo, NA, no es aplicable.

Los resultados del análisis farmacocinético poblacional se presentan en la Tabla (4-1). Finalmente, en la Figura 4-3 se muestra la predicción típica obtenida a partir de los parámetros medicofarmacológicos poblacionales y una rutina de regresión bayesiana que considera la variabilidad inter-individual y el error residual. Se observa que el modelo describe adecuadamente no solo el curso temporal de la concentración plasmática total, sino también el de la concentración libre, en todos los grupos experimentales.

DISCUSIÓN

Actualmente se acepta que la actividad farmacológica de un fármaco depende de su concentración en la biofase de receptor, lo cual está directamente relacionado con la concentración libre del fármaco en el plasma. Además de que solo la fracción libre está disponible para biotransformarse o excretarse [Du Souich *et al*, 1993; Lin *et al*, 1987]. Entonces cualquier variación en la unión a las proteínas plasmáticas debería tener un efecto significativo sobre la respuesta terapéutica dado que la unión a proteínas juega un papel importante en el proceso de distribución. En ese sentido se ha descrito que la constante de afinidad (la mayor cuando hay más de una clase de sitios de unión) es un parámetro importante para determinar el efecto de la unión sobre las propiedades de distribución de los fármacos. Generalmente se asume que si ésta constante es menor a 10^4 M^{-1} , el efecto sobre la distribución es mínimo [Rowland y Tozer, 1989; Notari, 1986]. En estudios previos (ver Capítulo I de esta tesis), se determinó que el tolmetín presenta dos clases de sitios de unión. La constante de afinidad mayor tuvo un valor superior a $1 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$, lo cual puede anticipar que un estado de hipoalbuminemia, debería tener impacto sobre la farmacocinética del tolmetín, y probablemente sobre su acción farmacológica.

En el caso del tolmetín, existe controversia acerca de la distribución de este AINE ya que se ha reportado que a dosis bajas presenta una farmacocinética lineal [Migdalof *et al*, 1976], mientras que a dosis altas tiene una eliminación tipo Michaelis-Menten [Sabater *et al*, 1992; Ayres *et al*, 1977].

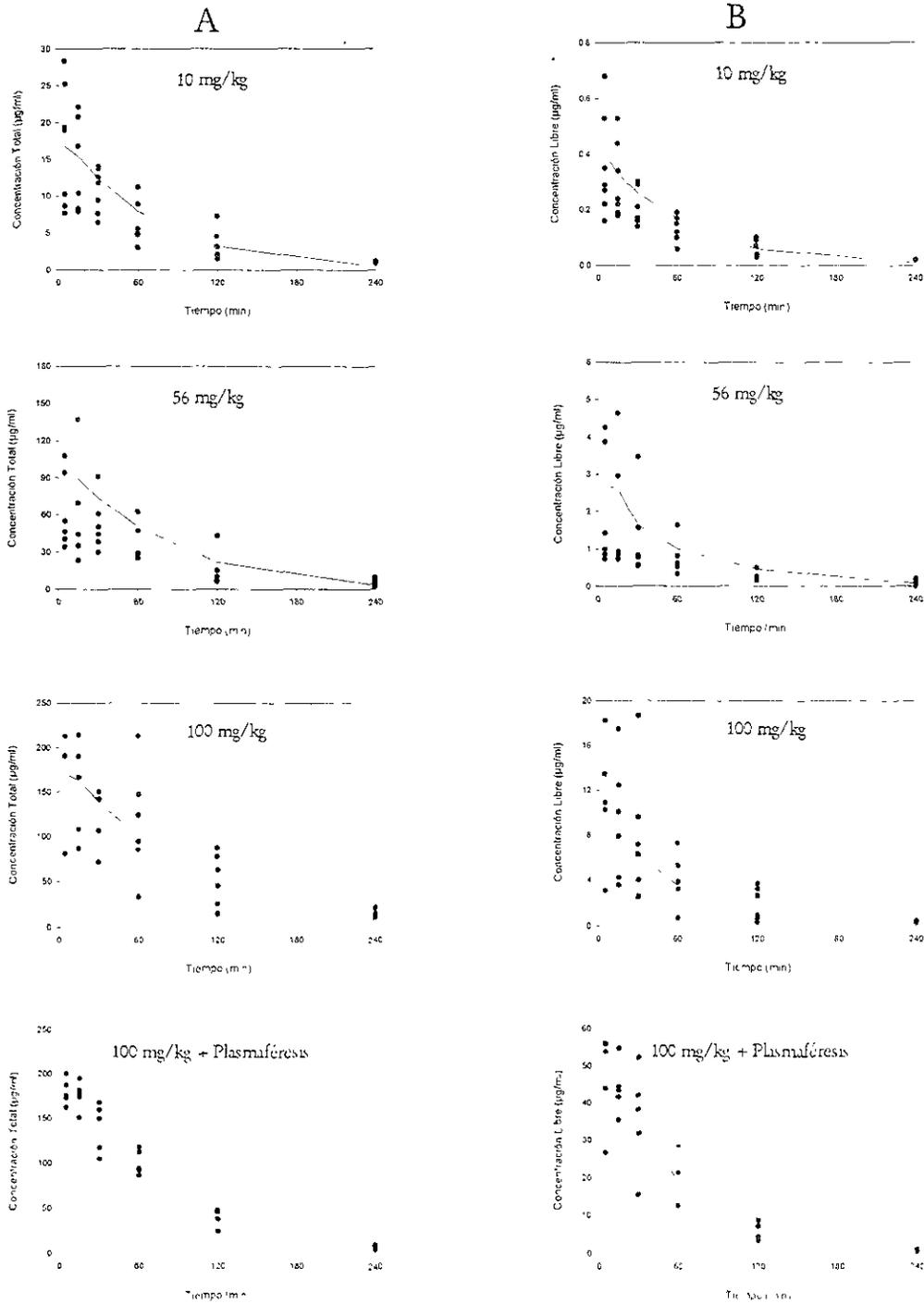


Figura 4-3. Predicciones del modelo FC poblacional con eliminación tipo Michaelis-Menten, para el tolmetín en ratas “intactas” y sometidas a plasmaféresis (hipoalbuminemia moderada). A la izquierda (A) se muestra el curso temporal de la concentración total y a la derecha (B) el curso temporal de la concentración libre. Los puntos son las observaciones individuales, y las líneas son las predicciones típicas medias del modelo.

En este estudio fue necesario desarrollar un modelo farmacocinético, con enfoque poblacional con eliminación saturable tipo Michaelis-Menten para explicar el curso temporal de la concentración total, pero también de la concentración libre del tolmetín en ratas control e hipoalbuminémicas.

El enfoque poblacional ha demostrado ser una herramienta muy útil en el discernimiento de fuentes de variabilidad que influyen sobre la farmacocinética y la farmacodinamia tanto a nivel experimental como clínico [Mandema *et al.*, 1992; Jelliffe *et al.*, 1993; Balant y Gex-fabry, 2000]. Al aplicar el enfoque poblacional se asume que las siguientes expresiones representan al modelo seleccionado:

$$C_{ij} = f(D_i, P_i, t_j) * (1 + \varepsilon_{ij})$$

C_{ij} representa al valor de C en el individuo i a tiempo j (t_j). D_i , es el valor de la dosis administrada al individuo i , y P_i representa el conjunto de parámetros farmacocinéticos estimados para dicho individuo. ε_{ij} representa la desviación entre el valor de C predicho por el modelo y el obtenido experimentalmente. El conjunto de todos los ε s, se asume que sigue una distribución normal con media 0 y varianza σ^2 . f representa la estructura del modelo seleccionado:

$$\frac{dA(1)}{dt} = -K_{a_i} + A(1) \dots \dots \dots (1)$$

$$\frac{dA(2)}{dt} = K_{a_i} * A(1) - \frac{V_{max_i}}{K_{m_i} + (A(2)/V_i)} * \frac{A(2)}{V} \dots \dots \dots (2)$$

$dA(1)/dt$ y $dA(2)/dt$ representan la velocidad de cambio de las cantidades de fármaco en intestino y plasma. K_{a_i} , V_{max_i} , K_{m_i} , y V_i , son los parámetros farmacocinéticos para el individuo i ; K_{a_i} constante de velocidad de absorción de primer orden, V_{max} , velocidad de eliminación máxima, K_{m_i} constante de Michaelis-Menten, V , volumen aparente de distribución.

Cada uno de esos parámetros (y tomando V como ejemplo) se modeló de la siguiente forma:

$$V_i = V_{pop} * e^{\eta V}$$

V_{pop} es el valor típico poblacional (el mismo para todos los individuos), y η_v representa la desviación del valor individual con relación al típico poblacional. El conjunto de todas las desviaciones para un determinado parámetro se asume que sigue una distribución normal de media 0 y varianza ω^2 ; ω^2 hace referencia a la variabilidad interindividual, y constituye uno de los elementos diagonales de la matriz varianza-covarianza Ω [Beal y Sheiner, 1992]. La expresión anterior asume una distribución log-normal de los estimados individuales de V . En el caso de K_a y V_{max} , no se pudieron obtener estimados de variabilidad interindividual, por lo tanto $K_{ai} = K_{a_{pop}}$, $V_{maxi} = V_{max_{pop}}$.

Un aumento de la dosis además de saturar los mecanismos enzimáticos de la eliminación del tolmetín, producía un aumento considerable de f_u . En el caso de fármacos con una eliminación restrictiva como el tolmetín, este incremento en f_u debería manifestarse en un aumento del aclaramiento plasmático [Lin *et al*, 1987]. No obstante, cuando se consideró al valor observado de f_u como posible variable influyendo en la depuración no se consiguió ninguna mejora en el ajuste. La explicación a este resultado puede estar relacionada con el hecho de que en las condiciones experimentales del estudio se habían alcanzado concentraciones de saturación, por lo que el efecto de cambios en f_u sobre el aclaramiento es más difícil de predecir.

En ese sentido, Grindel *et al* [1979] reportó un incremento significativo en la depuración renal del tolmetín y de su principal metabolito oxidado en pacientes artríticos. Estos investigadores propusieron que fue el incremento en el volumen de distribución secundario a una disminución en la unión a proteínas plasmáticas, la explicación al incremento en la depuración. En nuestro estudio, ese no pareció ser el caso ya que interesantemente, se observó una falta de correlación entre el volumen aparente de distribución y los cambios en f_u . En este caso lo que ocurre es que aparte de aumentar f_u , se produce un incremento en la fracción de fármaco libre en tejidos (f_{up}). Este fenómeno es en general difícil de demostrar. En el presente estudio, cambios en f_u debidos al aumento de dosis y/o a la plasmaféresis estaban asociados a cambios casi proporcionales en los niveles de C_u . Este hecho puede ser explicado mediante cambios paralelos en f_{up} . En general se asume que los niveles de C_u permanecen relativamente constantes a cambios en f_u , siendo los niveles de C los más afectados. Sin embargo una modificación de f_{up} repercute siempre en los niveles de f_u . Al no disponer de valores de f_{up} se optó por no modelar el volumen aparente de distribución en base a la unión del fármaco a

plasma y tejidos. El balance entre los cambios en f_u y f_{up} hace que los tres grupos de animales tengan el mismo valor típico de volumen aparente de distribución.

En conclusión, los resultados de nuestro estudio sugieren que la alteración en la unión a las proteínas plasmáticas del tolmetín, durante un proceso de hipoalbuminemia moderada no influye sobre la farmacocinética del AINE. En todo caso, el aumento de la fracción libre en ese grupo experimental si confirma la existencia de saturación en el mecanismo de eliminación del tolmetín. Esta característica fue implementada en un modelo farmacocinético poblacional, el cual describió adecuadamente los resultados experimentales. En ese modelo, los estimados de los parámetros farmacocinéticos y de su variabilidad interindividual son razonables, además de haber sido calculados con una buena precisión. Lo mismo aplica para el error residual. En su conjunto, se apreció que el modelo fue capaz de describir adecuadamente no solo el curso temporal de la concentración plasmática total sino también el de la concentración libre en todos los grupos experimentales. Que por dilucidar si los cambios en la unión a las proteínas plasmáticas inducidos por la hipoalbuminemia tienen algún impacto sobre la actividad analgésica o antiinflamatoria del tolmetín.

CAPITULO V. MODELAJE POBLACIONAL DE LA RELACIÓN ENTRE LA CONCENTRACIÓN Y EL EFECTO ANTIINFLAMATORIO DEL NAPROXÉN.

RESUMEN

La representación cuantitativa de la relación dosis-concentración-respuesta proporciona información para la predicción del curso temporal del nivel de respuesta a cierto nivel de dosis de fármaco. En este trabajo, se presentan los resultados del modelaje farmacocinético-farmacodinámico (FC-FD), con un enfoque de respuestas fisiológicas indirectas, empleado para caracterizar el efecto antiinflamatorio del naproxén en ratas. El efecto del naproxén se describió adecuadamente con un modelo de efecto máximo sigmoidal inhibitorio. El modelo desarrollado incluye un compartimento extra que explica la síntesis y liberación de mediadores de la inflamación durante un período de tiempo limitado, y que es el blanco del fármaco. Lo anterior, puede entenderse de acuerdo al nivel de interacción del naproxén con la enzima responsable de la síntesis de prostaglandinas. Adicionalmente, el modelo supone constantes de orden cero para la síntesis de los mediadores y la producción basal de la respuesta inflamatoria, así como constantes de primer orden para la liberación de los mediadores desde el compartimento de síntesis y para la degradación de la respuesta inflamatoria. Estos procesos son modulados por la farmacocinética del naproxén, administrado por vía oral, cuya potencia *in vivo* fue estimada en $4.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ (CI_{50}).

INTRODUCCIÓN

Al igual que otros fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), el naproxén ha sido extensivamente empleado en el tratamiento de la artritis reumatoide, el síndrome febril y el dolor [Davies y Anderson, 1997; Insel, 1996]. El naproxén inhibe tanto a la ciclo-oxigenasa 1 (COX-1; constitutiva), como a la ciclo-oxigenasa 2 (COX-2; inducida en estados de inflamación), y por tanto, la producción de prostaglandinas (PGs) y tromboxanos [Eric *et al*, 1999; Langenbach *et al*, 1999; Vane, 1971].

Existe poca información relativa a las propiedades farmacodinámicas, basada en la relación concentración-efecto *in vivo* de los AINEs. Recientemente, en distintos protocolos clínicos se publicó la caracterización del efecto antipirético del ibuprofen en niños con su concentración en la

biofase [Kauffman *et al*, 1992; Kelley *et al*, 1992; Brown *et al*, 1998], así como en plasma, empleando modelos de respuestas indirectas [Trocóniz *et al*, 2000; Garg y Jusko, 1994]. Sin embargo, aunque los estudios preclínicos son alternativas útiles para investigar diferentes modelos FC-FD que den luz sobre los mecanismos de acción de los fármacos, poco se ha publicado al respecto. Respecto a los AINEs, en nuestro conocimiento, solo se ha publicado una aproximación descriptiva de la relación temporal concentración-efecto antiinflamatorio del naproxén en ratas [Castañeda-Hernández *et al*, 1995], así como un modelo integrado FC-FD para el ketoprofén en ovejas y caballos [Landoni *et al*, 1996; Landoni *et al*, 1999]. Por ello, el objetivo del presente estudio fue desarrollar un modelo FC-FD que describiera el efecto antiinflamatorio del inhibidor no-selectivo de la COX, naproxén. Para ello fue preciso contar con un modelo experimental adecuado.

Ahora bien, cualquier modelo que involucre una alteración mediada por adyuvantes supone la complejidad adicional de la evolución natural de la respuesta inflamatoria, la cual debería ser incluida en el modelo. En el modelo de la carragenina, la inyección subplantar de este polisacárido genera una reacción inflamatoria tiempo-dependiente [Winter *et al*, 1962; Castañeda-Hernandez *et al*, 1995; Di Rosa *et al*, 1970]. En este modelo, los niveles de la COX-2 se incrementan junto con el consecuente aumento de prostaglandinas (PGs). Aunque estos mediadores no parecen tener efectos directos sobre la permeabilidad vascular, tanto la PGE₂ como la PGI₂ incrementan marcadamente la formación de edema y la filtración leucocitaria, al promover el flujo sanguíneo de la región inflamada. Correspondientemente, la inhibición de la COX conduce a una disminución de la producción de PGs en el sitio de la inflamación, así como a nivel espinal [Seibert *et al*, 1994; Coderre *et al*, 1990]. Vane y Botting [1994] sugirieron que las PGs juegan un papel importante en la promoción de los signos y síntomas de la inflamación. No obstante, como en el caso del efecto antipirético y analgésico, la cinética del efecto antiinflamatorio aún está por ser caracterizada. En este estudio, se propone un modelo FC-FD de respuestas fisiológicas indirectas que explica el curso temporal del efecto antiinflamatorio del naproxén. Este modelo considera que el fármaco ejerce su acción farmacológica inhibiendo la liberación de los mediadores de la inflamación.

OBJETIVO

Desarrollar un modelo poblacional FC-FD de respuestas fisiológicas indirectas que explique curso temporal de la inflamación y del efecto antiinflamatorio del naproxén en ratas.

HIPÓTESIS

El efecto antiinflamatorio del naproxén está modulado por su farmacocinética y puede ser descrito por modelos FC-FD de respuestas fisiológicas, donde se supone que la inflamación inducida por la carragenina está condicionada a la síntesis y liberación de mediadores endógenos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Reactivos

El naproxén [ácido (S)-6-metoxi- α -metil-2-naftalenacético] y el diclofenac (empleado como estándar interno) fueron gentilmente proporcionados por Laboratorios Syntex S.A. (Mexico, D.F.), y Novartis de México (Mexico, D.F.), respectivamente. La carragenina (fracción lambda) se compró a Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO). Todos los demás reactivos y solventes se compraron en fuentes comerciales y fueron de grado analítico.

Animales

Se emplearon ratas Wistar macho de 6 a 7 semanas de edad, con peso entre 180 y 250 g, las cuales se obtuvieron del bioterio del Departamento de Farmacología y Toxicología del CINVESTAV-IPN. Los animales se mantuvieron bajo condiciones estándar de laboratorio, con ciclos de luz-obscuridad de 12 h. Las ratas tuvieron libre acceso a comida y agua, hasta 12 h previas al inicio del experimento. Después del procedimiento quirúrgico, las ratas se colocaron en cajas individuales. Los protocolos del estudio fueron diseñados siguiendo las recomendaciones del comité de ética e investigación del CINVESTAV-IPN para el uso y cuidado de animales de experimentación.

Procedimientos quirúrgicos

El día del experimento, las ratas se anestesiaron con vapores de éter etílico y se implantaron catéteres de polietileno (una combinación de un PE-10 y PE-50, con diámetro interno de 0.28 y 0.58 mm, respectivamente) en la arteria caudal tal como ha sido previamente descrito por Granados-Soto *et al* [1995b]. Los cateteres se llenaron con una solución salina heparinizada (20 UI/mL) para prevenir la coagulación.

Diseño experimental

La Figura 5-1 representa los horarios de administración y colección de datos farmacocinéticos y farmacodinámicos.

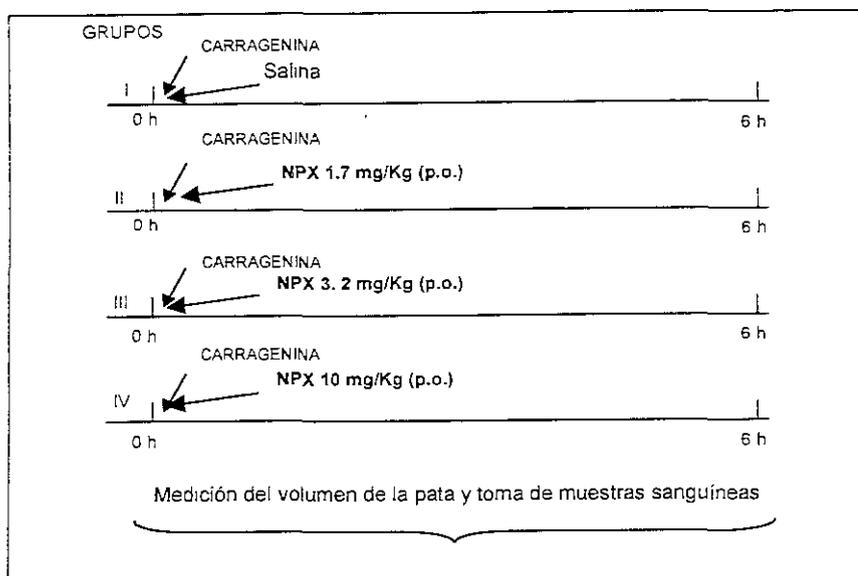


Figura 5-1: Diseño experimental usado en el estudio de la relación concentración-efecto antiinflamatorio del naproxén.

Los animales ($n=24$) se asignaron aleatoriamente en cuatro grupos experimentales. Con el fin de inducir la inflamación, a todos los animales se les administró subcutáneamente, en el cojinete plantar inferior derecho, 0.1 mL de una suspensión de carragenina al 1 % en solución salina (0.9%). La inflamación inducida se midió por pletismografía tal como ha sido previamente descrito [Winter *et al*, 1962]. El volumen de la pata se determinó una vez justo antes y durante las siguientes 6 horas (0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 h) posteriores a la administración de carragenina y fármaco.

Inmediatamente después de la administración de carragenina, las ratas recibieron una dosis oral de naproxén, suspendido en una solución de carboximetilcelulosa al 0.5 %, en dosis de 1.7 mg/kg (grupo II), 3.2 mg/kg (grupo III) y 10 mg/kg (grupo IV). El fármaco se administró en un volumen igual a 4 mL/kg. El grupo I (control) solo recibió carragenina y se le tomaron muestras sanguíneas en el mismo esquema que a los demás grupos, para evaluar la influencia del muestreo sobre el curso temporal de la inflamación. Las muestras de sangre arterial de 200 μ L ($n=8$) se tomaron a tiempos seleccionados (0, 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 y 6 h). El mismo volumen que se extrajo de sangre fue reemplazado con solución salina estéril.

Determinación de las concentraciones plasmáticas de naproxén

La medición de las concentraciones de naproxén en plasma se realizó empleando el método de cromatografía líquida previamente reportado por Borgå y Borgå [1997], con algunas modificaciones. Brevemente, a las muestras plasmáticas (10 μL) se adicionaron 20 μL de metanol conteniendo el estándar interno (diclofenac) a una concentración de 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Esta mezcla se diluyó a 500 μL con amortiguador de fosfatos (pH=7) y se agitó hasta homogenizarse. Entonces, una alícuota de 20 μL se inyectó al cromatógrafo.

El sistema cromatográfico consistió de una bomba Waters 510 (Waters Assoc., Milford, MA, USA), un inyector Rheodyne 7725i con asa de 20 μL (Cotati, CA, USA), y un detector de longitud de onda variable Waters 484 fijo a 231 nm. La separación se realizó sobre una columna Symmetry C₁₈ de 150 x 3.9 mm (d.i.) y 4 μm de tamaño de partícula (Waters Assoc., Milford, MA, USA), empleando como fase móvil una mezcla de ácido fosfórico 1 mM y acetonitrilo (62:38 v/v). La fase móvil se mantuvo a un flujo constante de 0.8 mL/min, y a temperatura ambiente. La señal mostró linealidad en el rango de 0.1-50 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Los coeficientes de variación intra- en inter- ensayo fueron 3.1 y 4.9 %, respectivamente.

Análisis de Datos

Los cursos temporales de la concentración de fármaco y efecto antiinflamatorio se analizaron con un enfoque poblacional, empleando el método de primer orden implementado en el programa NONMEM [version V; Beal y Sheiner, 1992]. Este enfoque hace posible el ajuste simultáneo de los datos de todos los individuos, describiendo la tendencia media de la población y los perfiles individuales, así como una estimación de la variabilidad inter-individual y del error residual.

La variabilidad inter-individual se ajustó empleando modelos exponenciales. La variabilidad residual se modeló usando un modelo de coeficientes de variación constantes para las concentraciones plasmáticas de naproxén, y un modelo aditivo para las mediciones del efecto.

La selección del modelo se basó en el análisis exploratorio de gráficas de bondad de ajuste, realizado con el programa Xpose [Jonsson y Karlsson, 1999], los estimados de los parámetros y sus intervalos de confianza. El valor mínimo de la función objetivo (OBJ) proporcionada por NONMEM también se empleó como un criterio de selección de modelo. La diferencia en OBJ entre dos modelos hierárquicos se distribuye aproximadamente en forma de una chi-cuadrada; se empleó un valor de

significancia de $p < 0.05$. Los resultados del análisis de datos se presentan como el valor estimado y error estándar relativo. Los estimados de la variabilidad inter-individual y de la variabilidad residual se expresan como coeficientes de variación (CV, %).

Modelos Farmacocinéticos. Las propiedades de disposición del naproxén se caracterizaron empleando modelos compartimentales. Se evaluaron diferentes modelos de absorción, de primer orden, de orden cero, y tipo Michaelis-Menten. La presencia de un tiempo de retardo (*lag time*) también se exploró.

Modelos Farmacodinámicos. La Figura 5-2 muestra el modelo empleado para ajustar los datos farmacodinámicos del estudio.

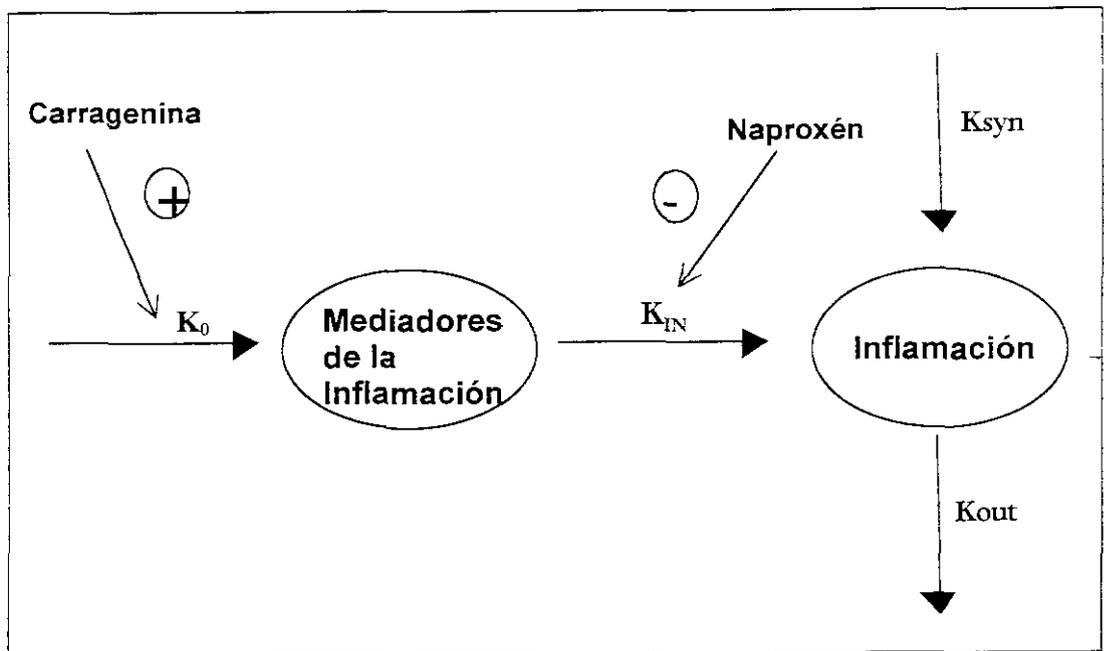


Figura 5-2. Representación esquemática del modelo farmacodinámico utilizado para describir el efecto antiinflamatorio del naproxén.

Para predecir adecuadamente los datos de inflamación, se construyó un modelo que pudiera explicar el retraso observado en los grupos tratados con naproxén respecto al control. Este modelo asume que:

- (i) La inyección de carragenina desencadena una formación transiente de mediadores inflamatorios (M), lo cual es descrito por K_0 , la constante de formación de orden cero. Esta constante se activa solo por un período limitado, entre la inyección de carragenina y T_{syn} (la duración del período de formación de la respuesta inducida, un parámetro estimado por el modelo).
- (ii) La respuesta inflamatoria inducida por M, está gobernada por una constante de primer orden (K_{IN}), la cual es inhibida por el naproxén en plasma.
- (iii) En ausencia de carragenina y/o fármaco en el organismo, el control del volumen de la pata de la rata (nivel basal), se mantiene por un balance entre la producción (representada por la constante de orden cero, K_{syn}), y la degradación (representada por la constante de primer orden, K_{out}) de la respuesta inflamatoria. Este modelo se puede representar por el siguiente juego de ecuaciones diferenciales:

$$\frac{dM}{dt} = K_0 - K_{IN} \cdot (1 - DRUG) \cdot M \quad (1)$$

$$\frac{dR}{dt} = K_{IN} \cdot (1 - DRUG) \cdot M + K_{syn} - K_{out} \cdot R \quad (2)$$

Donde dM/dt representa la velocidad de cambio de síntesis de mediadores inflamatorios, dR/dt es la velocidad de cambio de la respuesta inflamatoria y $DRUG$ es el efecto del naproxén en el sistema. Se evaluaron diferentes modelos para la acción del fármaco, tal como el lineal, Emax y el Emax sigmoidal.

RESULTADOS

Farmacocinética. Un modelo abierto de un compartimento fue suficiente para describir la disposición del naproxén en plasma después de una administración oral. Los valores típicos de los estimados (y su variabilidad inter-individual asociada) para la depuración (Cl), y el volumen total de distribución (V), se muestran en la Tabla 5-1. El perfil promedio de las concentraciones de naproxén, observadas y de las predicciones típicas del modelo, a lo largo del tiempo se muestran en la Figura 5-3.

La biodisponibilidad relativa para el grupo que recibió la dosis mas baja de naproxén se fijó a 1, y basándose en ella, la biodisponibilidad de los grupos de 3.2 y 10 mg/kg se estimó para valores significativamente inferiores a 1 ($p < 0.05$); se encontró una reducción significativa de 25 % en la biodisponibilidad de la dosis mas alta.

Tabla 5-1. Estimados de los parámetros farmacocinéticos del naproxén po. para las dosis de 1.7, 3.2, 10 mg/Kg en ratas.

PARÁMETRO	ESTIMADO	IAV
V (mL/kg)	164 (0.16)	16 (0.34)
CL (mL/h/kg)	33.6 (0.21)	20 (0.44)
KA (1/h)	14.82 (0.08)	50 (0.48)
F (1.7 mg/kg)	1 FIX	NE
F (3.2 mg/kg)	0.8 (0.9)	NE
F (10 mg/kg)	0.77 (0.1)	NE

Los estimados de variabilidad inter-individual (IAV) se expresan como coeficientes de variación (%). La precisión de los estimados se expresa como el error estándar relativo, en paréntesis. El error estándar relativo es el error estándar dividido por el estimado del parámetro. V, volumen de distribución; CL, depuración plasmática total; KA, constante de absorción de primer orden; F, biodisponibilidad; NE, no estimado por el modelo. FIX: fijo en el modelo.

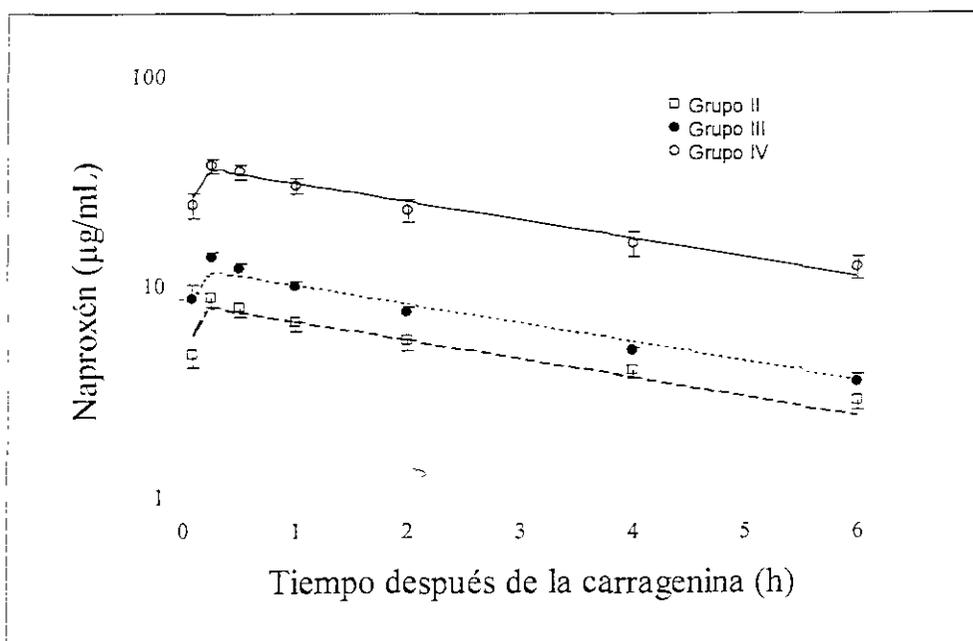


Figura 5-3. Curso temporal de la concentración plasmática de naproxén. Los puntos representan las observaciones promedio. Las líneas representan las predicciones medias típicas. Las líneas verticales son la desviación estándar del promedio.

La concentración máxima de naproxén se observó 20 minutos después de la administración del fármaco en todos los grupos. Los valores correspondientes fueron 9.1 ± 0.8 , 14.4 ± 0.7 y 39.3 ± 3.1 $\mu\text{g/mL}$ para las dosis de 1.7, 3.2 y 10 mg/kg, respectivamente.

Farmacodinamia. La Figura 5-4 muestra los cursos temporales promedio de la inflamación. Los valores promedio del volumen basal de la pata de las ratas (30.8 ± 0.99 mL) no fueron significativamente diferentes entre todos los grupos. La inflamación máxima observada en los grupos I a IV fueron 46.55 ± 2 , 48.7 ± 2.5 , 44.5 ± 2.3 y 40.5 ± 2.4 mL, respectivamente.

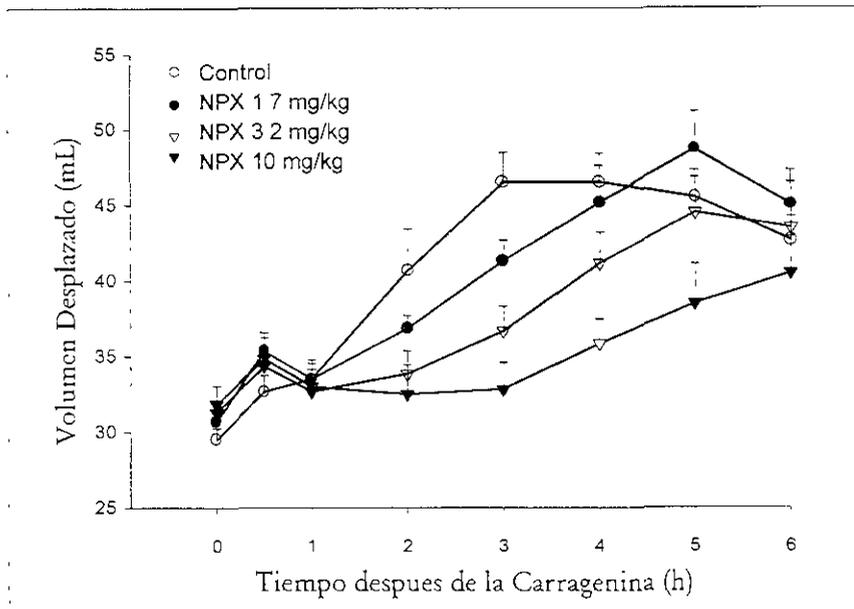


Figura 5-4. Curso temporal promedio de la inflamación después de la inyección de carragenina y la administración de naproxén

Estos máximos se observaron a las 3.3 ± 0.8 , 4.8 ± 0.26 , 5.5 ± 0.55 y 5.9 ± 0.2 h, después de la inyección de carragenina. Lo anterior evidencia una clara dependencia del tiempo al efecto máximo con el tiempo. No se observaron diferencias significativas entre los grupos al final del experimento ($p > 0.05$). En los grupos III y IV la inflamación de la pata regresó y se mantuvo en los niveles basales hacia las 2 ± 0.89 y 3 ± 0.52 h después del inicio del experimento, respectivamente.

Modelaje Farmacocinético-Farmacodinámico. La Figura 5-5 muestra el curso temporal típico predicho para la respuesta inflamatoria, tal como lo describe el modelo que emplea las ecuaciones 3 y 4. El efecto del naproxén se describió adecuadamente con un modelo de efecto máximo sigmoideal

inhibitorio. Los estimados de los parámetros FD y de su variabilidad inter-individual se listan en la Tabla 5-2. El efecto máximo (E_{max}) se fijó a 1, dado que en el caso de los grupos III y IV, la concentración plasmática del fármaco fue capaz de bloquear, de manera prácticamente total, la evolución de la respuesta inflamatoria durante 2 y 3 h, respectivamente. Al tiempo anterior a la inyección de la carragenina $dR/dt = 0 = K_{syn} - K_{out} * E_0$, donde E_0 es el volumen basal de la pata, R_0 ; entonces $K_{syn} = K_{out} * R_0$. El valor típico de K_{syn} , empleando los estimados de K_{out} y E_0 fue 19.2 mL/h.

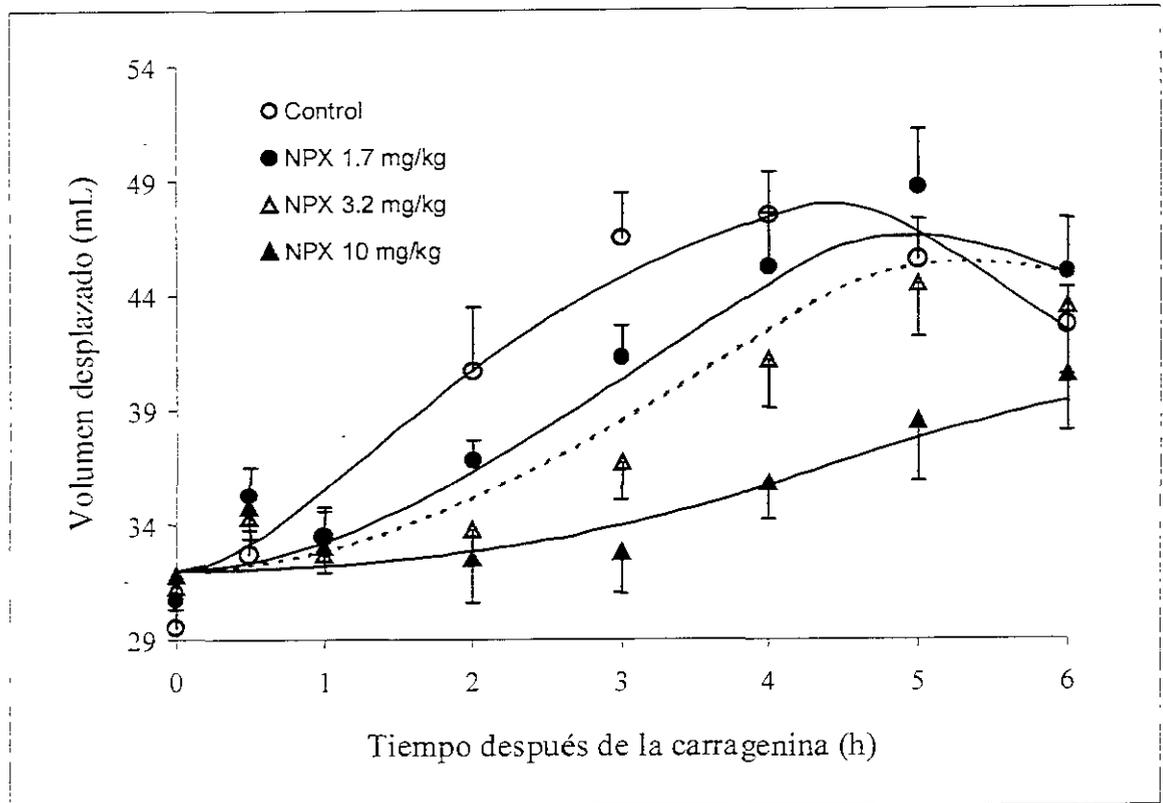


Figura 5-5. Curso temporal de la inflamación después de la inyección de carragenina y la administración de naproxén (los puntos son las observaciones promedio, las líneas las predicciones típicas del modelo, la variabilidad de las observaciones se omite por clauda).

Finalmente, en la Figura 5-6 se muestra la predicción individualizada de la FC y el efecto antiinflamatorio en ratas típicas, obtenida a partir de los parámetros medios poblacionales y una rutina de regresión bayesiana que considera la variabilidad inter-individual y la residual.

Tabla 5-2. Resultados farmacodinámicos obtenidos del modelaje farmacocinético-farmacodinámico del efecto antiinflamatorio del naproxén en la rata.

PARAMETRO	ESTIMADO	IAV
K_{out} (1/h)	0.6 (0.45)	47 (0.35)
K_{IN} (1/h)	1.05 (0.4)	NE
K_0 (mL/h)	0.35 (0.4)	NE
T_{syn} (h)	4.26 (0.07)	NE
E_0 (mL)	32 (0.01)	36 (0.53)
IC_{50} (μ g/mL)	4.13 (0.27)	7 (0.31)
γ	1.5 (0.11)	NE

Los estimados de la variabilidad inter-animal (IAV) se expresan como coeficientes de variación (%). La precisión de los estimados se expresa como error estándar relativo en paréntesis. El error estándar relativo es el error estándar dividido por el estimado del parámetro. K_{out} , es la constante de primer orden de degradación de la respuesta, K_{IN} , es la constante de primer orden de la liberación de los mediadores inflamatorios en el compartimento de la inflamación. K_0 , es la constante de orden cero, para síntesis de mediadores de la. T_{syn} , es la duración de la síntesis de la inflamación; E_0 , es la volumen basal de la pata. IC_{50} , es la concentración de naproxén que genera la mitad de la inhibición máxima de K_{IN} , γ , es el parámetro de sigmoidicidad, NE, no estimado por el modelo.

DISCUSIÓN

Farmacocinética. Cuando se calculó el área bajo la curva (ABC_{DOSES}) de la concentración plasmática, corregida por la dosis, contra el tiempo, el valor de ABC_{DOSES} de la dosis de 1.7 mg/kg, fue semejante a la obtenida por otros autores [Castañeda-Hernández *et al*, 1995; Josa *et al*, 2000]. Sin embargo, el ABC_{DOSES} de los grupos de 3.2 y 10 mg/kg fueron significativamente inferiores (23 y 22 mg·h/mL, respectivamente). Sobre la base de estos resultados preliminares, asumimos que la biodisponibilidad (F) de la dosis mas baja era total, y se permitió al modelo que estimara la F para los otros grupos. Los resultados de otros autores han mostrado que el naproxén presenta una F elevada pero no completa [Lauroba *et al*, 1986]. La razón de esta disminución en F con las dosis superiores no está clara, pero podría ser que el tiempo de tránsito por el intestino sea la limitante para la absorción.

de la COX-2 correlaciona con la duración estimada por el modelo para la síntesis de mediadores inflamatorios ($T_{syn} = 4.26$ h).

Cuando las ratas se trataron simultáneamente con el agente adyuvante y naproxén, los grupos II y III (1.7 y 3.2 mg/kg) mostraron una respuesta inflamatoria sorprendentemente superior a la del control hacia las 6 h. Esto podría deberse a que el fármaco induce un retraso en el curso temporal de la inflamación. Esto es, que el curso natural de la liberación de mediadores de la inflamación es frenado por la actividad inhibitoria del naproxén a dosis bajas. Ahora bien, cuando se administró una dosis mas alta (10 mg/kg, grupo IV), la respuesta inflamatoria máxima, no solo se retrasa, sino que se ve reducida en comparación con el grupo control, y mas aún, ésta reducción no es revertida en el período de observación. Un patrón semejante de efecto antiinflamatorio fue reportado por Castañeda-Hernandez *et al.*, [1995] en un grupo de ratas que recibieron una dosis oral de naproxén de 6 mg/kg. Por tanto, las consideraciones del modelo sobre la cinética de la acción del fármaco parecen ser correctas dado que las predicciones correlacionaron adecuadamente con las observaciones a lo largo de todo el curso temporal de la inflamación en los cuatro grupos experimentales. Estas consideraciones incluyeron constantes de orden cero para la síntesis de los mediadores y la producción basal de la respuesta inflamatoria, así como constantes de primer orden para la liberación de los mediadores desde el compartimento de síntesis y la degradación de la respuesta inflamatoria. Aunque la magnitud de los parámetros estimados difiere de lo descrito para procesos celulares, debe considerarse que los modelos experimentales son también diferentes. No obstante, el orden de velocidad es semejante al reportado por distintos estudios. En efecto, Fitzgerald *et al.*, [1981] describieron una velocidad de primer orden para la liberación de prostaglandinas en humanos. Por otra parte, la duración de la síntesis de mediadores de la inflamación de nuestro modelo, una expresión del orden de velocidad, está en buen acuerdo con el período de producción de PGE_2 en un modelo semejante al usado en este estudio (ver antes, Seibert *et al.*, 1994). Finalmente, la degradación de PGI_2 (otra PG pro-inflamatoria) se ha reportado inicialmente rápida (de primer orden) y posteriormente se hace mas lenta [Zhang *et al.*, 1997; Rosenkranz *et al.*, 1980].

En resumen, se propuso un modelo FC-FD de respuestas fisiológicas indirectas para describir el efecto antiinflamatorio del naproxén en la rata. El naproxén mostró una potencia como antiinflamatorio, estimada como IC_{50} , de $4.1\mu g/mL$, la cual es semejante a la que se ha descrito para

este AINE en la inhibición *in vitro* de las COX-1 y -2 (2.2/1.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$), [Mitchell *et al.*, 1994]. El modelo descrito incluye un compartimento extra que explica la síntesis y liberación de mediadores de la inflamación y que es el blanco del fármaco. Lo anterior, puede entenderse de acuerdo al nivel de interacción del naproxén con la COX. Esto es, parece ser que en la formación del edema actúan secuencialmente eventos vasculares y locales, así como la activación de células migradas y la producción de otros mediadores que finalmente resultan en la síntesis de prostanoïdes pro-inflamatorios. Por tanto, debería haber mas de un blanco en esta cascada de eventos, que explique el efecto antiinflamatorio del naproxén en este modelo experimental.

CAPÍTULO VI. ANÁLISIS POBLACIONAL DE LA INFLUENCIA DE LA HIPOALBUMINEMIA MODERADA SOBRE LA RELACIÓN FARMACOCINÉTICA-FARMACODINÁMICA DEL TOLMETÍN EN RATAS.

RESUMEN

Se exploró el potencial del modelaje farmacocinético-farmacodinámico (FC-FD) como herramienta descriptiva del mecanismo de acción del tolmetín en un modelo de inflamación aguda. Se evaluó la farmacocinética, la unión a proteínas y el efecto antiinflamatorio del tolmetín administrado oralmente a ratas control (10-100 mg/kg) y con hipoalbuminemia moderada (100 mg/kg). Comparado con la inflamación en el grupo control, las ratas hipoalbuminémicas mostraron una disminución significativa y retrasada en la formación del edema. Para caracterizar el curso temporal del efecto antiinflamatorio del tolmetín, se empleó un modelo FC-FD de respuestas fisiológicas indirectas desarrollado previamente. Este modelo supone que el efecto antiinflamatorio del tolmetín se debe a la acción inhibitoria de la concentración total del AINE en el compartimento donde se generan y liberan los mediadores inflamatorios por un período de tiempo limitado (T_{syn} ; alrededor de 3 h). Este efecto inhibitorio del tolmetín pudo ser descrito por un modelo sigmoideal de efecto máximo, el cual predijo una potencia *in vivo* (CI_{50}) de $0.24 \mu M$ para las ratas control. Sin embargo, la incorporación de los datos de hipoalbuminemia al modelo, produjo una aparente elevación de la potencia del tolmetín ($CI_{50}=0.007 \mu M$). De hecho, el enfoque poblacional del modelo FC-FD demostró que la concentración de albúmina es una covariable predictiva de la constante de velocidad (K_0) y el tiempo de síntesis (T_{syn}) de los mediadores de la inflamación. Con los resultados anteriores pudo demostrarse la utilidad del modelaje FC-FD en la descripción del mecanismo de acción subyacente a la actividad antiinflamatoria del tolmetín. Además, se demostró que la disminución de la unión a proteínas plasmáticas, provocada por la hipoalbuminemia, modifica la respuesta inflamatoria y la potencia del fármaco, pero no su efecto máximo.

INTRODUCCIÓN

El tolmetín es un fármaco relativamente antiguo, pues fue introducido al mercado a mediados de los 70's. A la dosis recomendadas (0.8 a 1.6 g al día), es aproximadamente equivalente en eficacia a la aspirina en dosis bajas, pero usualmente mejor tolerado. Diferentes estudios han demostrado que,

hasta la aparición de los nuevos inhibidores selectivos de la COX-2, la elevada potencia antiinflamatoria, buena actividad analgésica y pronto inicio de acción del tolmetín, hicieron de este AINE, el fármaco de elección en el tratamiento crónico de la osteoartritis, la artritis reumatoide y, principalmente, la forma juvenil de la última [Ehrlich, 1983; Cassidy, 1999]. Se ha descrito que el mecanismo por el cual el tolmetín ejerce sus acciones antiinflamatoria y analgésica es la inhibición de la síntesis de prostanoïdes. El tolmetín inhibe no selectivamente tanto a la COX-1 (constitutiva) como a la COX-2 (inducida en estados de inflamación) [Taylor y Salata, 1976; Rabasseda, 1996].

Por otra parte, se ha propuesto que en fármacos que presentan alta fijación a proteínas plasmáticas y un volumen de distribución del fármaco libre pequeño (como los AINEs), la posibilidad de que produzcan desplazamientos por causas fisiopatológicas (o producidas por la administración concomitante de fármacos), pueden ser de trascendencia clínica. Esto se debe a que al aumentar la fracción libre en el plasma, también se incrementa la concentración en la biofase y la respuesta al fármaco puede modificarse [Tozer, 1984]. Cabe mencionar que tanto en el caso de diclofenac como de naproxén, se han descrito modificaciones en el efecto analgésico como consecuencia de cambios fisiológicos naturales, -envejecimiento- o bien, debido a ciertas patologías [Davies y Anderson, 1997; Delmas, 1995]. En ambos casos podría sugerirse que los cambios en la fijación a proteínas plasmáticas sea el origen de tales cambios en la farmacodinámica del analgésico.

Ahora bien, aunque los estudios preclínicos son alternativas útiles para investigar diferentes modos de acción FC-FD que den luz sobre los mecanismos de acción de los fármacos, así como de la influencia de las alteraciones fisiopatológicas, poco se ha publicado al respecto. En el caso del tolmetín, Florjanczyk y Murrieta *et al.*, [1998] reportaron un modelo FC-FD basado en respuestas fisiológicas indirectas (RFI) para describir el efecto analgésico, pero no el antiinflamatorio de este AINE en ratas. Por otra parte, en el capítulo anterior de esta tesis se presentó un modelo FC-FD-RFI, para el efecto antiinflamatorio del naproxén en ratas fisiológicamente intactas. Ese modelo está basado en la actividad inhibitoria del fármaco sobre uno de los procesos que desencadenan la respuesta antiinflamatoria después de la administración de carragenina en la pata [Josa *et al.*, 2000].

Entonces, el objetivo del presente estudio fue evaluar y extender el modelo FC-FD desarrollado anteriormente, para describir la influencia de la alteración en la unión a proteínas provocada por un estado de hipoalbuminemia moderada, sobre el curso temporal del efecto antiinflamatorio del tolmetín. El modelo que finalmente se obtuvo permitió demostrar que (i) el efecto antiinflamatorio

del tolmetín se debe principalmente a la inhibición de la síntesis de prostaglandinas; (ii) la hipoalbuminemia disminuye la respuesta inflamatoria a la carragenina; (iii), la hipoalbuminemia modifica los parámetros de unión del tolmetín, incrementando significativamente su fracción libre; (iv) la hipoalbuminemia abate la CI_{50} del tolmetín respecto a las ratas control, y (v) la concentración de albúmina es una covariable de la velocidad y tiempo de síntesis de mediadores inflamatorios en el modelo poblacional de efectos mixtos.

OBJETIVO

Caracterizar el impacto de la hipoalbuminemia moderada sobre el efecto antiinflamatorio del tolmetín en ratas, empleando modelos FC-FD con enfoque poblacional.

HIPÓTESIS

La hipoalbuminemia modifica el curso temporal de la inflamación, pero también las propiedades antiinflamatorias del tolmetín administrado por vía oral a ratas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Reactivos

El tolmetín y la carragenina (fracción lambda) se compraron a Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). El ketorolac (-sal de trometamina-), empleado como estándar interno fue gentilmente donado por Laboratorios Roche-Syntex (México, D.F). El acetonitrilo, de grado cromatográfico, se obtuvo de E. Merck (Darmstadt, Alemania). Todos los demás reactivos fueron de grado analítico. El agua empleada para preparar las soluciones fue obtenida usando un Milli-Q Reagent Water System (Continental Water Systems, El Paso, TX, U.S.A.).

Animales

Se emplearon ratas Wistar macho de 6 a 7 semanas de edad, con peso entre 200 y 250 g, las cuales se obtuvieron del bioterio del Departamento de Farmacología y Toxicología del CINVESTAV-IPN. Los animales se mantuvieron bajo condiciones estándar de laboratorio, con ciclos de luz-obscuridad de 12 h. Las ratas tuvieron libre acceso a comida y agua, hasta 12 h previas al inicio del protocolo de farmacocinética. Después del procedimiento quirúrgico, las ratas se colocaron en cajas individuales. Los protocolos del estudio fueron diseñados siguiendo las recomendaciones del comité de ética e investigación del CINVESTAV-IPN para el uso y cuidado de animales de experimentación

Procedimientos quirúrgicos

Las ratas se anestesiaron con vapores de éter etílico y se implantaron catéteres de polietileno (una combinación de PE-10 y PE-50, con diámetro interno de 0.28 y 0.58 mm, respectivamente), en la arteria y vena caudal. Los catéteres se llenaron con una solución salina heparinizada (20 UI/ml) para prevenir la coagulación.

La hipoalbuminemia se produjo por un procedimiento de plasmaféresis (PLF). Se extrajo sangre (1 ml/kg x 5, durante 16 h) de la arteria caudal y se centrifugó a 2500 rpm. El plasma se desechó y se reemplazó volumen a volumen con una solución Ringer-Lactato (Laboratorios Abbot, México, D.F.). El paquete sanguíneo más el Ringer se reinfundieron lentamente. Se desarrolló una batería de pruebas de la actividad hepática y renal para evaluar la inocuidad del procedimiento de plasmaféresis. Se evaluaron las concentraciones de albúmina plasmática por el método de verde de bromocresol durante la PLF y las 4 h siguientes (protocolo de farmacocinética). Se consideró que los animales presentaban hipoalbuminemia moderada si la concentración plasmática de albúmina se había reducido al menos un 25% respecto a su valor basal.

Diseño experimental

La Figura 6-1 representa los horarios de administración y colección de datos farmacocinéticos y farmacodinámicos

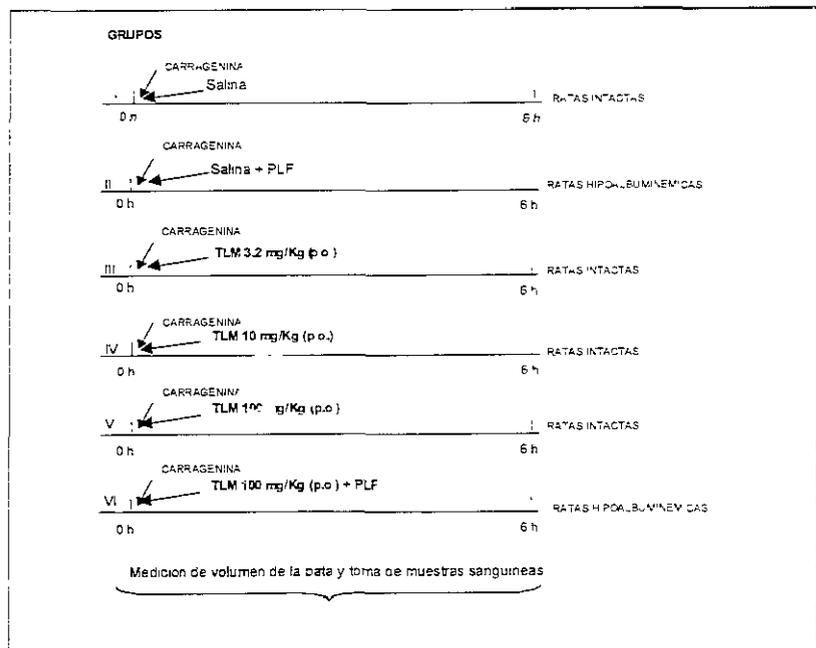


Figura 6-1: Diseño experimental usado en el estudio la influencia de la hipoalbuminemia sobre la relación concentración-efecto antiinflamatorio del tolmestín en la rata.

Los animales ($n=36$) se asignaron aleatoriamente en seis grupos experimentales. Con el fin de inducir la inflamación, a todos los animales se les administró subcutáneamente, en el cojinete plantar inferior derecho, 0.1 mL de una suspensión de carragenina al 1 % en solución salina (0.9%). La inflamación inducida se midió por pletismografía tal como ha sido previamente descrito [Winter *et al.*, 1962]. El volumen de la pata se determinó una vez justo antes y durante las siguientes 6 horas (0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 h) posteriores a la administración de carragenina y fármaco.

Inmediatamente después de la administración de carragenina, ambos grupos control (ratas intactas e hipoalbuminémicas, I y II) solo recibieron solución salina y se les tomaron muestras sanguíneas en el mismo esquema que a los demás grupos, para evaluar la influencia del muestreo sobre el curso temporal de la inflamación. Los grupos III a V, recibieron dosis orales de 3.2, 10 y 100 mg/kg de tolmetín, suspendido en una solución de carboximetilcelulosa al 0.5 %. El grupo VI fue inicialmente sometido al procedimiento de PLF y posteriormente recibió una dosis de 100 mg/kg de tolmetín. El fármaco se administró en un volumen igual a 4 mL/kg. Las muestras de sangre arterial de 400 μL ($n=8$) se tomaron a tiempos seleccionados (0, 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 y 6 h). El mismo volumen que se extrajo de sangre fue reemplazado con solución salina estéril.

Determinación de la concentración total y libre de tolmetín

La medición de las concentraciones plasmáticas total y libre de tolmetín plasma se realizó empleando el método de cromatografía líquida previamente reportado por Borgå y Borgå [1997]. Una breve descripción de estos procedimientos se presentó en el Capítulo IV de esta tesis.

Análisis de datos

Los cursos temporales de la concentración total y libre del fármaco se analizaron con un enfoque poblacional, empleando el método de primer orden implementado en el programa NONMEM [Beal y Sheiner, 1992]. Este enfoque hace posible el ajuste simultáneo de los datos de todos los individuos, describiendo la tendencia media de la población y los perfiles individuales, así como una estimación de la variabilidad inter-individual y del error residual.

La variabilidad inter-individual se ajustó empleando modelos exponenciales. La variabilidad residual se modeló usando un modelo de coeficientes de variación constantes para las concentraciones plasmáticas de tolmetín, y un modelo aditivo para las mediciones del efecto. La selección del modelo se basó en el análisis exploratorio de gráficas de bondad de ajuste, realizado con el programa λ pose

[Jonsson y Karlsson, 1999], los estimados de los parámetros y sus intervalos de confianza. El valor mínimo de la función objetivo (OBJ) proporcionada por NONMEM también se empleó como criterio de selección de modelo. La diferencia en OBJ entre dos modelos hierárquicos se distribuye aproximadamente en forma de una chi-cuadrada; se empleó un valor de significancia de $p < 0.05$. Los resultados del análisis de datos se presentan como el valor estimado y error estándar relativo. Los estimados de la variabilidad inter-individual y de la variabilidad residual se expresan como coeficientes de variación (CV, %).

Modelos farmacocinéticos y farmacodinámicos

Los parámetros farmacocinéticos poblacionales del tolmetín empleados para relacionarlos con el efecto antiinflamatorio corresponden a aquellos obtenidos en el Capítulo III de esta tesis, es decir correspondientes a un modelo abierto de un compartimento con absorción de primer orden y eliminación tipo Michaelis-Menten. En este modelo se consideró la posible influencia de la alteración de la unión a las proteínas plasmáticas, después del procedimiento de PLF, sobre los parámetros de volumen de distribución y depuración, considerando la fracción libre como un predictor de la concentración libre a partir de la concentración de albúmina.

Para predecir los datos de inflamación en los grupos de ratas intactas, se empleó el modelo FC-F desarrollado originalmente para describir el efecto antiinflamatorio del naproxén (ver Capítulo IV [Josa *et al*, 2000]). Este modelo permite explicar el retraso observado en los grupos tratados con el fármaco respecto al control.

Además, este modelo asume que:

- (i) La inyección de carragenina desencadena una formación transiente de mediadores inflamatorios (M), lo cual es descrito por K_0 , la constante de formación de orden cero. Esta constante es activa solo por un período limitado, entre la inyección de carragenina y T_{syn} (la duración del período de formación de la respuesta inducida, un parámetro estimado por el modelo).
- (ii) La respuesta inflamatoria inducida por M , está gobernada por una constante de primer orden (K_{IN}), la cual es inhibida por el tolmetín (pudiendo corresponder a la concentración total o la libre) en plasma.

- (iii) En ausencia de carragenina y/o fármaco en el organismo, el control del volumen de la pata de la rata (nivel basal) se mantiene por un balance entre la producción (representada por la constante de orden cero, K_{syn}), y la degradación (representada por la constante de primer orden, K_{out}), de la respuesta inflamatoria. Este modelo se puede representar por el siguiente juego de ecuaciones diferenciales:

$$\frac{dM}{dt} = K_0 - K_{IN} \cdot (1 - DRUG) \cdot M \quad (1)$$

$$\frac{dR}{dt} = K_{IN} \cdot (1 - DRUG) \cdot M + K_{syn} - K_{out} \cdot R \quad (2)$$

Donde dM/dt representa la velocidad de cambio de síntesis de mediadores inflamatorios, dR/dt es la velocidad de cambio de la respuesta inflamatoria y $DRUG$ es el efecto del tolmetín en el sistema. El efecto inhibitorio del fármaco sobre el sistema se caracterizó empleando un modelo sigmoidal de efecto máximo (E_{max}).

Aunque el modelo anterior fue adecuado para describir el curso natural del proceso inflamatorio y de la inhibición de éste por el tolmetín total en plasma, no fue capaz de predecir la disminución de efecto inflamatorio inducido por la hipoalbuminemia. Entonces, fue necesario incorporar al modelo poblacional, la concentración de albúmina como covariable de tipo exponencial. Para explorar la influencia de los cambios en la fracción libre, se emplearon los datos tanto de concentración libre como total. El modelo final que permitió describir adecuadamente el efecto de la hipoalbuminemia sobre el curso temporal del efecto antiinflamatorio del tolmetín total, se muestra en la Figura 6-2.

Análisis Estadístico. Los resultados del estudio farmacocinético y de inflamación se presentan como los valores promedio y su correspondiente desviación estándar. La comparación de los parámetros obtenidos en los modelos FC-FD inicial y final se realizó con una prueba t de Student para datos independientes. El nivel significancia estadística se fijó en $p < 0.05$.

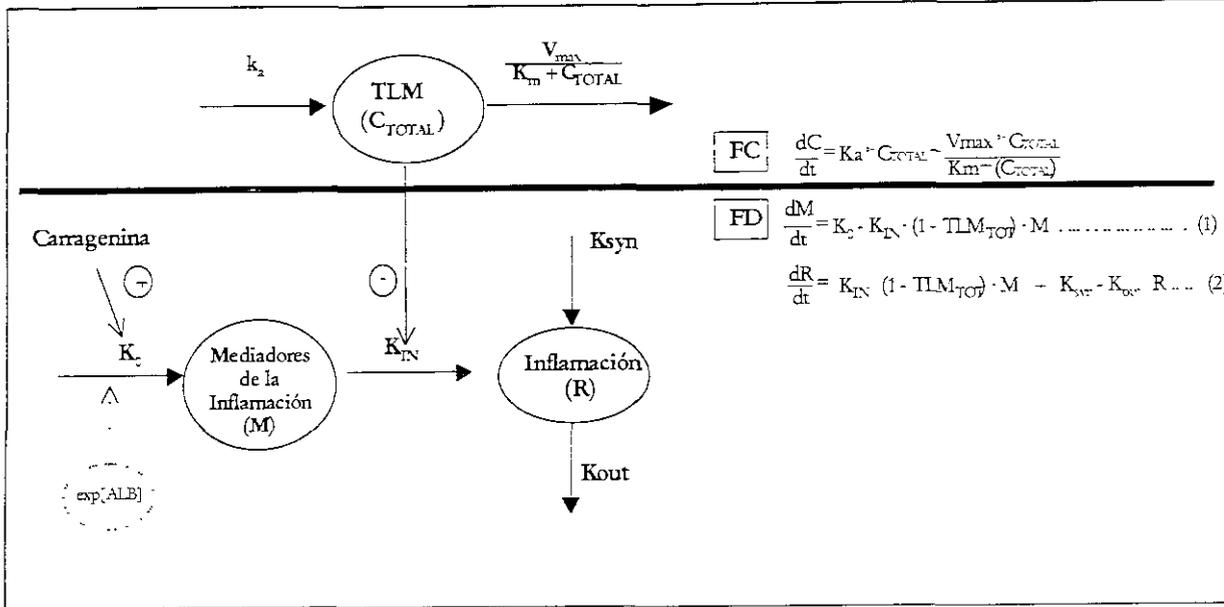


Figura 6-2. Representación esquemática del modelo integrado FC-FD usado para describir el efecto antiinflamatorio del tolmetín en ratas control e hipoalbuminémicas.

RESULTADOS

Farmacocinética y cambios en la unión a proteínas plasmáticas. Como se ha mencionado en el Capítulo I de esta tesis, la disminución significativa de la concentración de albúmina después de la PLF (>25%) se tradujo en cambios no solo en el grado de unión (la unión se volvió dependiente de la concentración de albúmina) sino también en la afinidad de la albúmina por el tolmetín (la constante de asociación disminuyó 10 veces su valor).

Por otra parte, los resultados de nuestro estudio sugieren que la alteración de la unión a las proteínas plasmáticas del tolmetín, durante un proceso de hipoalbuminemia moderada no influyó sobre la farmacocinética del AINE. En todo caso, el aumento de la fracción libre en ese grupo experimental confirma la existencia de saturación en el mecanismo de eliminación del tolmetín (ver Capítulo I). Esta característica fue implementada en un modelo farmacocinético poblacional, el cual describió adecuadamente los resultados experimentales. En ese modelo, los estimados de los parámetros farmacocinéticos y de su variabilidad inter-individual son razonables, además de haber sido calculados con una buena precisión. A manera de resumen, en la Tabla 6-1 se presentan los estimados de los parámetros poblacionales FC del tolmetín según el modelo anterior.

Tabla 6-1. Estimados poblacionales de los parámetros farmacocinéticos del tolnetrán p.o., según el modelo de eliminación tipo Michaelis-Menten

Parámetro	Estimado	Variabilidad Interindividual
$K_a(\text{min}^{-1})$	0.58 (19)	NE
V (L)	0.12 (8)	29 (42)
$V_{\text{max}}(\text{mg}\cdot\text{min}^{-1})$	0.63 (36)	NE
$K_m (\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	342 (43)	33 (34)
Variabilidad residual en C	24 (14)	NA
Variabilidad residual en C_u	1.2 (15)	NA

Los estimados de variabilidad interindividual y residual vienen expresados como coeficiente de variación (CV%). Entre paréntesis aparecen los estimados de la precisión para cada parámetro expresados también como CV%. NE, no estimado por el modelo. NA, no es aplicable.

Farmacodinamia en Ratas Intactas. Adicional a los grupos descritos en la sección de diseño experimental, la elección de las dosis de trabajo se basaron en la curva dosis-efecto antiinflamatorio que se presenta en la Figura 6-3.

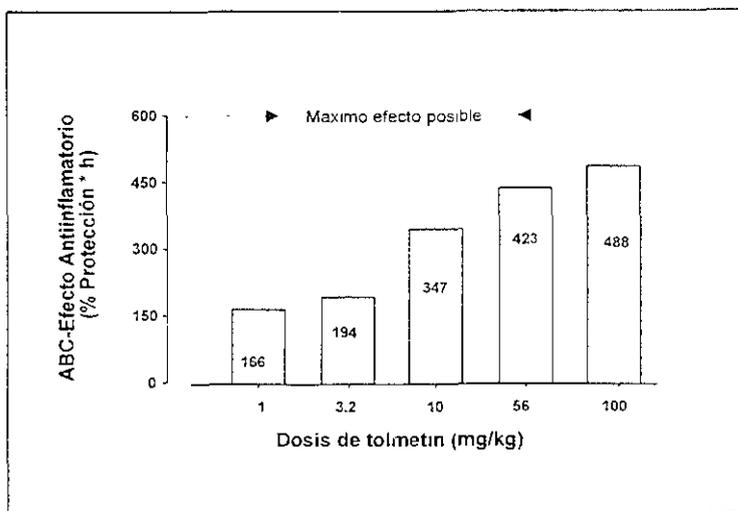


Figura 6-3. Curva dosis-efecto antiinflamatorio para el tolnetrán en ratas. La variable de respuesta ABC_i se refiere al área bajo la curva del curso temporal de una variable global denominada % de protección.

En esa gráfica se puede apreciar que las dosis elegidas de 3.2, 10 y 100 mg/kg p.o. de tolnetrán cubren prácticamente todo el rango del efecto antiinflamatorio del AINE.

Por otra parte, en la figura 6-4 se describe el curso temporal del volumen desplazado para los grupos tratados con las dosis seleccionadas, así como el control con salina, en ratas intactas. Como puede observarse, el incremento máximo de volumen se obtuvo a las 3 horas en el grupo control, que representa un aumento de alrededor del 60% respecto a la medición basal (47.9 ± 5.2 vs. $29.3 \pm$ mL). Los valores promedio del volumen basal de la pata de las ratas no fueron significativamente diferentes entre todos los grupos. De manera semejante a lo que ocurrió con naproxén (ver Capítulo V), en las ratas tratadas con tolmetín el desarrollo de la inflamación se inhibe de manera dependiente de la dosis. Esto es, la inflamación máxima observada en los grupos III a V fueron de $45.5 \pm 42.6 \pm 3.5$ y 44.5 ± 2.3 y 34.6 ± 4.4 mL, respectivamente.

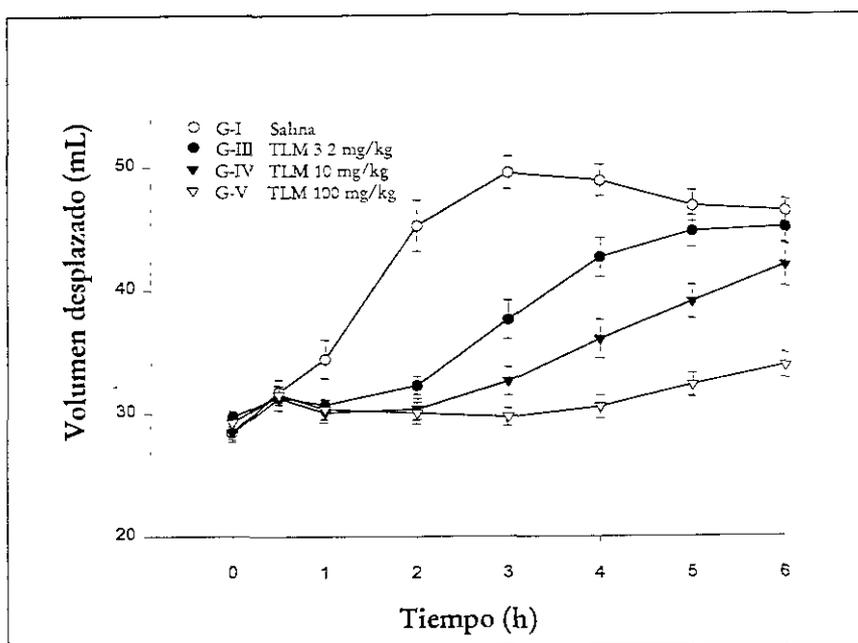


Figura 6-4. Curso temporal de la variable de medida de la inflamación después del tratamiento con salina y dosis crecientes de tolmetín po. en el modelo de edema por carragenina en la rata.

Sin embargo, el tiempo necesario para alcanzar este máximo valor de la respuesta medida parece retrasarse al incrementar la dosis y solo la dosis mayor (100 mg/kg), pareció mantener la inhibición del desarrollo de la inflamación hacia niveles basales durante todo el experimento (6 h).

Modelaje FC-FD en Ratas Intactas. Para modelar la relación FC-FD con la información anterior se tomó en consideración que ese comportamiento de no-estado estacionario del tiempo al efecto máximo

característico de los sistemas modulados por cascadas de eventos fisiológicos subyacentes a la variable de respuesta medida. En estos casos, el enfoque de modelaje FC-FD recomendado es el denominado de respuestas fisiológicas indirectas (RFI), el cual supone que después de la administración del fármaco hay una lenta generación de la respuesta, la cual está gobernada por la inhibición o la estimulación de factores que controlan esta respuesta [Dayneka *et al*, 1993; Jusko y Ko, 1994].

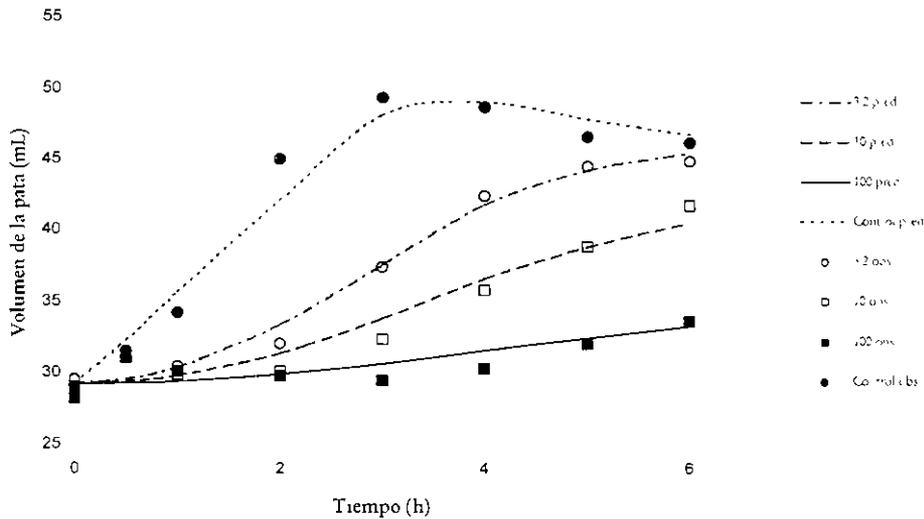


Figura 6-5. Curso temporal de la inflamación después de la inyección de carragenina y la administración de tolmetín (los puntos son las observaciones promedio, las líneas las predicción típica del modelo, la variabilidad de las observaciones se omite por claridad).

Por lo anterior, se decidió emplear el modelo FC-FD-RFI desarrollado para el naproxén (ver Capítulo V). Después de valorar la utilidad de la concentración libre como predictor de la respuesta (datos no mostrados), se encontró que era la concentración total de tolmetín, la variable que mejor predijo el curso temporal de su efecto antiinflamatorio. En la Figura 6-5 se muestra el curso temporal típico predicho para la respuesta inflamatoria promedio, tal como lo describe el modelo que emplea las ecuaciones 1 y 2. El efecto del tolmetín se describió adecuadamente con un modelo de efecto máximo sigmoidal inhibitorio.

Los estimados de los parámetros FD promedio se listan en la Tabla 6-2. El efecto máximo (E_{max}) se fijó a 1, dado que en el caso del grupo V, la concentración plasmática total del fármaco fue capaz de bloquear, de manera prácticamente completa, la evolución de la respuesta inflamatoria durante mas

de 3 horas. Por otra parte, considerando que al tiempo anterior a la inyección de la carragenina $dR_0 = 0 = K_{syn} - K_{out} * E_0$, donde E_0 es el volumen basal de la pata, R_0 ; entonces $K_{syn} = K_{out} * R_0$. El valor típico de K_{syn} , empleando los estimados de K_{out} y E_0 fue 1.8 mL/h.

Farmacodinamia en Ratas Hipoalbuminémicas. El procedimiento de plasmaféresis por recambio de plasma por Ringer resultó en una disminución gradual de la concentración de albúmina plasmática que alcanzó significancia después de 12h. Esta disminución fue superior al 25% (hipoalbuminemia moderada) a las 16 h (Fig 6-6).

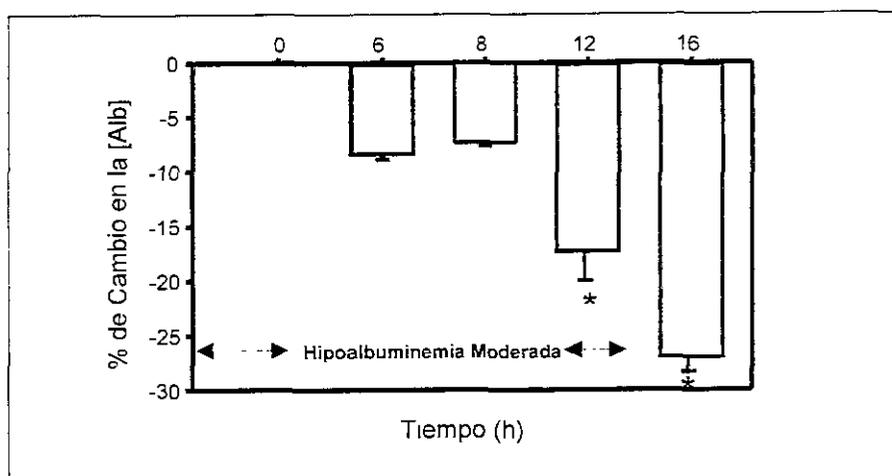


Figura 6-6. Evolución de la concentración de albúmina durante el procedimiento de plasmaféresis para inducir un estado de hipoalbuminemia en ratas (las barras son el promedio de 6 observaciones, las líneas verticales representan el error estándar de la media)

Después de alcanzar este nivel, la reducción de la concentración de albúmina permaneció constante durante el período de 6 horas que dura el experimento de inflamación. El procedimiento de plasmaféresis no provocó pérdida significativa en el peso de los animales.

El procedimiento de plasmaféresis no modificó significativamente el volumen basal de la pata. Sin embargo, después de la administración de carragenina, la evolución del volumen desplazado (inflamación) en el grupo sometido a PLF fue significativamente menor al del control en ratas intactas y aún más, la respuesta inflamatoria máxima fue retrasada (Figura 6-7). Después de la administración de una dosis oral de 100 mg/kg de tolmetín (grupo VI), en las ratas hipoalbuminémicas la respuesta inflamatoria no se vio modificada significativamente respecto

grupo V (ratas intactas) y en todo caso, se puede apreciar que una reversión del efecto antiinflamatorio un poco mas rápida en el grupo VI comparado con el grupo V.

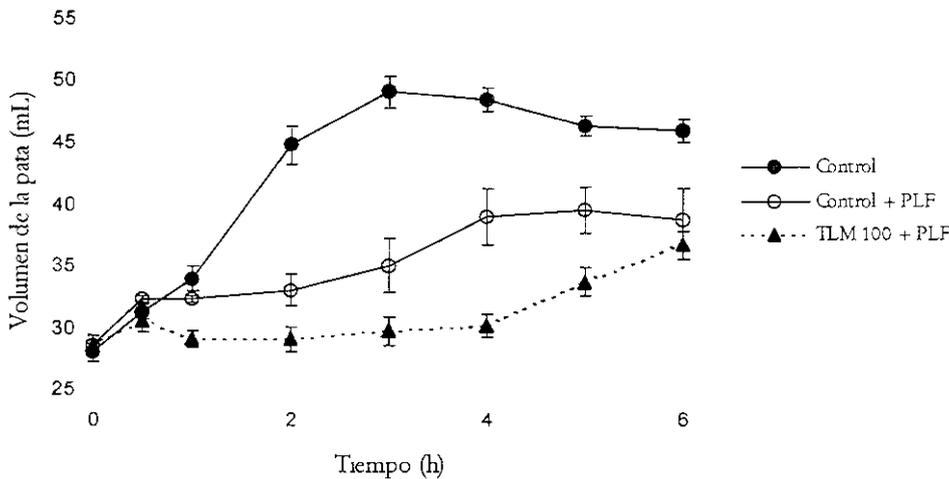


Figura 6-7. Curso temporal de la inflamación inducida por la administración subplantar de carragenina en ratas intactas, hipoalbuminémicas e hipoalbuminémicas tratadas con 100 mg/kg de tolmetín po. (las observaciones se representan como el promedio de 6 observaciones \pm el error estándar de la media)

Modelaje FC-FD en Ratas Hipoalbuminémicas. Al aplicar el modelo FC-FD desarrollado anteriormente para las ratas intactas, con el fin de ajustar simultáneamente todos los grupos experimentales, las predicciones obtenidas fueron poco satisfactorias. Lo anterior fue independiente del empleo de la concentración total o libre del fármaco como modulador de la respuesta del tolmetín (datos no presentados). Entonces, fue necesario explorar la forma de considerar el efecto del cambio en la concentración de la albúmina plasmática sobre todo el sistema FC-FD. Al emplear el enfoque poblacional considerando esta concentración de albúmina como una covariable predictora de los parámetros del modelo FC-FD, se encontró que fueron la constante de generación de mediadores inflamatorios (K_0) y en menor medida el tiempo de generación de los mismos ($T_{0.5}$), los factores que se ven influenciados. De esta forma, la inclusión de ALB como covariable de ambos, permitió predecir de manera razonablemente adecuada el curso temporal promedio de todos los grupos experimentales. Por motivos de comparación, en la Figura 6-8 solo se presentan las predicciones para

los grupos control de ratas intactas e hipoalbuminémicas, así como los grupos administrados con 100 mg/kg de tolmetín (intactas e hipoalbuminémicas).

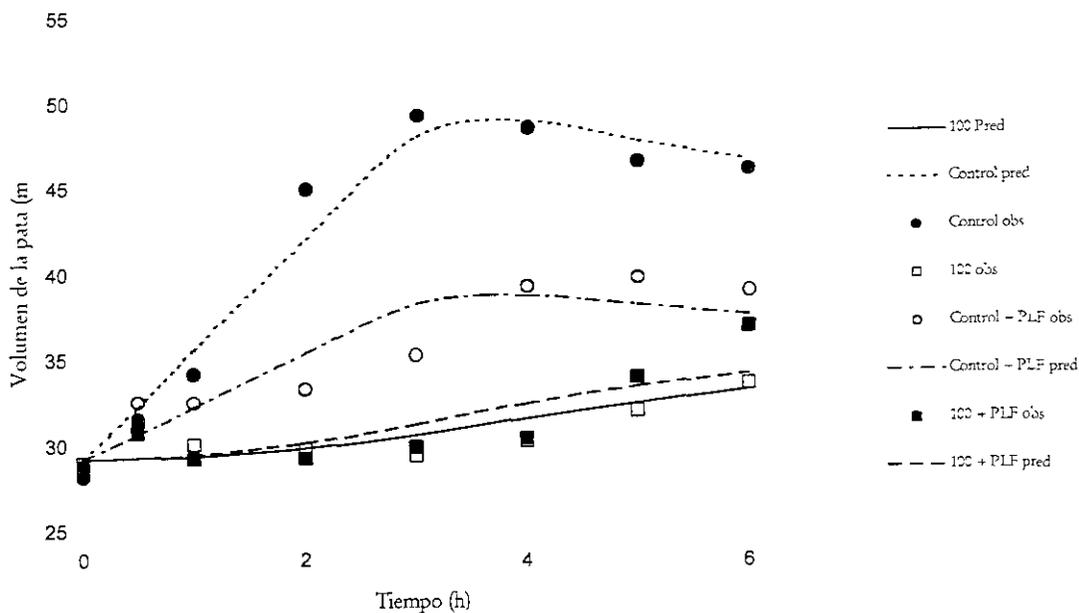


Figura 6-8. Predicciones medias del modelo integrado FC-FD-RFI para la influencia de la hipoalbuminemia sobre el curso temporal de la inflamación y del efecto antiinflamatorio del tolmetín en el modelo de edema por carragenina en la rata (los puntos son las observaciones promedio, las líneas las predicción típica del modelo, la variabilidad de las observaciones se omite por claridad)

En esa figura puede apreciarse que aún el comportamiento de reversión anticipada del efecto antiinflamatorio del tolmetín observado en el grupo VI respecto al grupo V, pudo ser anticipado por el modelo FC-FD-RFI.

El modelo integrado FC-FD-RFI que considera la aproximación poblacional y las covariables se mostró en la Figura 6-2. En la Tabla 6-2, se listan de manera comparativa con el modelo FC-FD en ratas intactas, los estimados de los parámetros FD promedio generados en este modelo.

Tabla 6-2: Estimados poblacionales medios de los parámetros farmacodinámicos obtenidos del modelaje FC-FD del efecto antiinflamatorio del tolmetín administrado oralmente a ratas control e hipoalbuminémicas

Parámetro	MODELOS FC-FD-RFI	
	I. Ratas Intactas	II. Ratas Hipoalbuminémicas
K_{out} (h^{-1})	0.07	0.06
K_{IN} (h^{-1})	5.7	19.8 *
K_0 (mL/h)	0.27	0.05 *
T_{syn} (h)	2.9	3.24
E_0 (mL)	29.4	29.5
IC_{50} (μM)	0.244	0.008 *
γ	0.65	0.47
COV-[ALB] 1 (K_0)	NA	0.025
COV-[ALB] 2 (T_{syn})	NA	7.8×10^{-6}
Variabilidad Residual	11.3	28.6

Los valores mostrados son los estimados poblacionales promedio. La variabilidad residual se expresa como coeficiente de variación (%). K_{out} , es la constante de primer orden de degradación de la respuesta; K_{IN} , es la constante de primer orden de la liberación de los mediadores inflamatorios en el compartimento de la inflamación; K_0 , es la constante de orden cero, para síntesis de mediadores de la; T_{syn} , es la duración de la síntesis de la inflamación; E_0 , es la volumen basal de la pata; IC_{50} , es la concentración de tolmetín que genera la mitad de la inhibición máxima de K_{IN} ; γ , es el parámetro de sigmoidicidad; NA. No aplica. COV-[ALB] 1 y 2 son los coeficientes de la covariable, concentración de albúmina, actuando sobre el parámetro especificado * ($p < 0.05$).

El valor típico de K_{out} para este modelo, estimado como se mencionó antes y empleando los valores de K_{out} y E_0 correspondientes, no cambió respecto al estimado en el modelo para ratas intactas (2.08 mL/h). Sin embargo, la constante de orden cero de síntesis de mediadores se redujo significativamente, aún cuando el tiempo durante el cual se produjeron los mediadores (T_{syn}) no pareció cambiar. Este aparente aumento de la velocidad de síntesis de mediadores se vio contrarrestado por una disminución en la velocidad de pseudosecreción (K_{IN}) de estos en el compartimento de la respuesta medida. En todo caso, el cambio más importante en los parámetros

del modelo se dio en el caso del drástico aumento de la potencia in vivo aparente (CI_{50}) del tolmetín provocada por el estado de hipoalbuminemia en las ratas.

DISCUSIÓN

Influencia de la alteración en la unión a proteínas plasmáticas sobre la farmacocinética. Durante mucho tiempo se ha asumido que la unión a las proteínas plasmáticas limita el acceso de los AINEs al espacio intersticial perivascular [Lin *et al*, 1987]. Esta posibilidad es una consideración importante en terapia dado que la respuesta clínica a los AINEs debería corresponder con las concentraciones dentro del tejido inflamado que a aquellas medidas en el sistema vascular. Simkin *et al* [1994], han propuesto que la trascendencia de la unión a proteínas de los AINEs es mas bien limitada ya que estos fármacos en general tienen elevados grados de unión (>90%) y una variación de la unión debería conducir a cambios en la vida media de eliminación, lo cual no se ha demostrado.

En este estudio, y tal como se ha demostrado previamente (ver Capítulo IV), los resultados sugieren que la alteración en la unión a las proteínas plasmáticas del tolmetín, durante un proceso de hipoalbuminemia moderada no influyó sobre la farmacocinética del AINE. En todo caso, el aumento de la fracción libre en ese grupo experimental si confirma la existencia de saturación en el mecanismo de eliminación del tolmetín. Esta característica fue implementada en un modelo farmacocinético poblacional, el cual describió adecuadamente los resultados experimentales. En ese modelo, los estimados de los parámetros farmacocinéticos y de su variabilidad inter-individual son razonables además de haber sido calculados con una buena precisión. La media poblacional de estos parámetros fue empleada para calcular la concentración total de tolmetín que habría de modular su efecto antiinflamatorio en los modelos FC-FD-RFI implementados posteriormente.

Farmacodinamia. El modelo de edema inducido por carragenina ha sido usado desde hace tiempo para evaluar la actividad antiinflamatoria de diferentes fármacos [Winter *et al*, 1962; Nantel *et al*, 1994; Seibert *et al*, 1994; Smith, *et al*, 1998]. Aún cuando el tolmetín ha sido ampliamente utilizado en terapia de enfermedades inflamatorias como la artritis reumatoide y la osteoartritis [Ehrlich, 1994; Cassidy, 1999], no se han publicado trabajos clínicos o en modelos experimentales donde se explique la relación entre la concentración de este AINE y su efecto antiinflamatorio. Consecuentemente

tampoco se ha explorado la influencia potencial de la modificación de los niveles circulantes de albúmina, tal como ocurre en diversas patologías.

Algunas de estas enfermedades, que afectan el funcionamiento hepático, renal y aún la desnutrición grave, provocan una disminución drástica de los niveles circulantes de albúmina en el torrente sanguíneo [Tozer, 1984; Zini *et al*, 1990]. Si se considera que el fenómeno inflamatorio es causado por una migración del exudado protéico del plasma hacia el espacio extracelular [Guyton y Hall, 1998], podría anticiparse que un cuadro de hipoalbuminemia modifique el proceso inflamatorio y quizás la acción de los fármacos anti-inflamatorios. En este trabajo se utilizó un procedimiento de plasmaféresis (10 ml/kg x n=5; durante 16 h) en ratas Wistar macho para producir una hipoalbuminemia moderada y se evaluó el curso temporal de la inflamación subsecuente a la inyección subcutánea de carragenina (1%). El curso temporal de la concentración de ALB mostró una disminución significativa (>25%).

Comparado con la inflamación en el grupo control, las ratas hipoalbuminémicas mostraron una disminución significativa y retrasada en la formación del edema, sugiriendo que una disminución de la presión oncótica del plasma reduciría la capacidad de extravasación y, por tanto quizás, el requerimiento de fármacos antiinflamatorios.

Modelaje FC-FD. Se ha sugerido que con el fin de elegir el modelo FC-FD mas apropiado es esencial identificar el o los procesos biológicos que están implicados en el desencadenamiento de una respuesta inducida por un fármaco. Eventualmente los procesos FC, la distribución a la biofase, la interacción fármaco-receptor, la transducción de señales y los eventos post-receptor son factores que alteran el comportamiento farmacodinámico de un compuesto. Cuando es posible contar con la información anterior, aunque sea parcialmente, es posible vincular la FC y la FD con un soporte fisiológico real en vez solo números y ecuaciones abstractas [Perez-Unizar *et al*, 2000].

Para estimar los parámetros FD “in vivo” del tolmetín, se empleó un modelo poblacional FC-FD de respuestas fisiológicas indirectas, el cual había sido desarrollado para describir el efecto antiinflamatorio del naproxén (ver Capítulo V [Josa *et al*, 2000]). Este modelo se fundamenta en la consideración de que el AINE (tolmetín o naproxén) ejerce su acción a través de la inhibición del factor que gobierna el incremento de respuesta (síntesis de los mediadores inflamatorios).

En ese sentido, fisiológicamente se ha demostrado que la expresión de la COX-2 es inducida por la administración de carragenina en el cojinete plantar de la rata. Esto desencadena un proceso inflamatorio que puede ser bloqueado por la administración de antiinflamatorios no esteroides tradicionales y, específicamente por inhibidores selectivos de la COX-2 [Seibert, *et al*, 1994]. Estos resultados apoyan la hipótesis de que la PGE₂ derivada de la COX-2 juega un papel crucial en la iniciación y, sobretodo en el mantenimiento de la respuesta inflamatoria. Sobre la base de estas consideraciones, el modelo empleado asume que el tolmetín ejerce su acción a través de la inhibición del factor que gobierna el retraso en el inicio de la respuesta inflamatoria, más que en la disminución de la magnitud de la inflamación.

En efecto, parece ser que el tolmetín al igual que naproxén actúa bloqueando el paso desde el compartimento de los mediadores hacia el compartimento de la respuesta inflamatoria; es decir, no solo sobre la síntesis sino también en la liberación de algunos mediadores de la inflamación. Este modelo parecido fue empleado por Gozzi *et al* [1999] para explicar el incremento transitorio de la concentración plasmática del TNF- α inducida por el lipopolisacárido en ratones. Nosotros adaptamos ese modelo de manera que el fármaco actuara a través de la inhibición de la K_{IN} , en lugar de a través de la inhibición de K_0 como en el estudio de Gozzi. Nuestro modelo FC-FD asume que la producción de los mediadores de la inflamación se incrementa durante cierto período de tiempo (T_{gr}) después de la inyección de carragenina, asimismo que el incremento de la respuesta inflamatoria depende de la cantidad de tales mediadores.

Es importante subrayar que en el grupo basal, nuestro modelo fue incapaz de describir un aumento de volumen en la pata pequeño y transitorio observado entre 0 y 30 minutos. Sin embargo, el edema producido en este período parece ser el resultado de la liberación local rápida de bradicinina, la cual es insensible a la acción antiinflamatoria de los AINEs, tal como ha sido descrito anteriormente [Seibert *et al*, 1994; Hargreaves *et al*, 1988]. Por ello, esta pérdida de predictibilidad del modelo puede ser considerada irrelevante en la acción del tolmetín. Por otra parte, se observó una segunda fase de incremento substancial del volumen de la pata, a partir de los 30 minutos, el cual alcanzó su máximo después de 4 h y disminuyó notablemente hacia las 6 h (grupo control). Estos resultados correlacionan con el incremento observado en el mRNA de la COX-2 *in vivo*, así como de la formación de PGs pro-inflamatorias, reportados por Seibert *et al* [1994] y Smith *et al* [1995].

Asimismo, el período de expresión y actividad incrementada de la COX-2 correlaciona con la duración estimada por el modelo para la síntesis de mediadores inflamatorios ($T_{syn} = 2.9$ h).

Como se mencionó previamente, la administración simultánea de carragenina y tolmetín en dosis crecientes, mostró que el fármaco parece inducir un retraso en el curso temporal de la inflamación. Esto es, que el curso natural de la liberación de mediadores de la inflamación es frenado por la actividad inhibitoria del tolmetín a dosis bajas (3.2 mg/kg). Ahora bien, al administrar dosis mas altas (10 y 100 mg/kg), la respuesta inflamatoria máxima, no solo se retrasa sino que es reducida, en comparación con el grupo control. Este perfil de efecto antiinflamatorio fue observado en el caso del naproxén, tanto en esta tesis, como por Castañeda-Hernandez *et al* [1995].

Por tanto, las consideraciones del modelo sobre la cinética de la acción del fármaco parecen ser correctas dado que las predicciones correlacionaron adecuadamente con las observaciones a lo largo de todo el curso temporal de la inflamación en los grupos de ratas intactas. Mas aún, cuando se evaluó la eficiencia predictiva del modelo en el caso de las ratas hipoalbuminémicas, solo fue necesario incorporar la concentración de albúmina como covariable exponencial en los procesos de formación de mediadores de la inflamación (K_0 y T_{syn}). Lo anterior parece congruente desde el punto de vista fisiológico, ya que la formación del edema depende grandemente de la capacidad de extravasación de agua y proteínas plasmáticas desde el sistema circulatorio hacia el tejido dañado [Guyton y Hall, 1998]. Entonces, después de un procedimiento de PLF, donde la concentración de albúmina disminuyó drásticamente, cabe esperarse que disminuya la presión oncótica en plasma y por tanto la capacidad de fuga de fluido hacia el espacio extravascular. Lo anterior explicaría el curso temporal disminuido y retrasado de la inflamación.

Por otra parte, considerando que la interacción fármaco-proteína en el caso del tolmetín es elevada bajo condiciones normales, pero parece modificarse en un proceso de hipoalbuminemia (ver Capítulo III), podría anticiparse que la respuesta al fármaco se modificara al disminuir la concentración de proteínas. En este caso las predicciones del modelo FC-FD poblacional modificado, demostraron que no existen cambios en la velocidad de producción la respuesta (K_{syn}) inducidos por la hipoalbuminemia. Sin embargo, el estado hipoalbuminémico si pareció modificar la potencia predicha para el tolmetín, ya que la CI_{50} estimada disminuyó mas de 30 veces respecto a la estimada en ratas intactas. La explicación a este incremento en la potencia aparente del tolmetín es

incierto, pero podría estar relacionada con la disminución en la constante de afinidad de la albúmina por el tolmetín (ver Capítulo III). Congruente con lo anterior, Curnock *et al* [1997] reportaron que en un experimento *in vitro*, un aumento de 10% en la unión a proteínas de dos inhibidores selectivos de la COX redujo 32 veces su potencia.

En cuanto al efecto máximo, no se observaron modificaciones. Lo anterior, en parte, pudo deberse a que no se evaluó el efecto antiinflamatorio del tolmetín de dosis inferiores a 100 mg/kg en ratas hipoalbuminémicas. Finalmente, tanto las observaciones experimentales como las predicciones del modelo FC-FD final, mostraron una pequeña tendencia a la reversión del efecto antiinflamatorio del tolmetín hacia las 6 horas. Esta reversión pareció ser ligeramente mayor en el caso de las ratas hipoalbuminémicas. En ese respecto, en una revisión teórica Levy [1976], propuso que incrementos en la fracción libre de un agente altamente unido a proteínas, podría conducir a incrementos en la intensidad, pero a un acortamiento en la duración de la respuesta, después de la administración de dosis altas.

En resumen, se propuso un modelo FC-FD de respuestas fisiológicas indirectas para describir la influencia de la hipoalbuminemia sobre el efecto antiinflamatorio del tolmetín en la rata. El modelo descrito incluye un compartimento extra que explica la síntesis y liberación de mediadores de inflamación y que es el blanco del fármaco. La incorporación de los datos de hipoalbuminemia al modelo produjo una aparente elevación de la potencia del tolmetín ($CI_{50} = 0.007 \mu M$). De hecho, el enfoque poblacional del modelo FC-FD demostró que la concentración de albúmina es una covariable predictiva de la constante de velocidad (K_2) y el tiempo de síntesis (T_{syn}) de los mediadores de la inflamación. Fisiológicamente, lo anterior puede entenderse de acuerdo al nivel de interacción del tolmetín con la COX, así como las características de unión del fármaco a la albúmina plasmática. Con los resultados anteriores pudo demostrarse la utilidad del modelaje FC-FD en la descripción del mecanismo de acción subyacente a la actividad antiinflamatoria del tolmetín. Además, se demostró que la disminución en la unión a proteínas plasmáticas, provocada por la hipoalbuminemia, modifica la respuesta inflamatoria y la potencia del fármaco, pero no su efecto máximo.

DISCUSIÓN GENERAL

GENERALIDADES. Mientras que la farmacocinética describe los cursos temporales de la concentración de fármaco en los fluidos del cuerpo, resultantes de la administración de una cierta dosis de un fármaco, la farmacodinamia relaciona el efecto observado resultante de una cierta concentración del fármaco. La racionalización del modelaje FC/FD es vincular ambas disciplinas con el fin de establecer y evaluar la relación dosis-concentración-respuesta y, subsecuentemente describir y predecir los cursos temporales del efecto resultantes de una dosis del fármaco [Holford y Sheiner, 1981].

Bajo condiciones farmacocinéticas al estado estacionario, la relación concentración-efecto puede ser descrita por diversos modelos farmacodinámicos relativamente simples, que incluyen el modelo del efecto máximo y el modelo sigmoidal [Venitz, 1995; Bellisant *et al.*, 1998]. Sin embargo, cuando las condiciones no son de estado estacionario, se requieren modelos FC-FD integrados mas complejos para vincular y cuantificar la posible disociación entre la concentración y el efecto observado. La elección de un tipo de modelo o aún la forma de abordar este, depende del objetivo del estudio, de las variables implicadas, así como de las herramientas de análisis de datos con que se cuenta [Derendorf y Meibohm, 1999; Pérez-Urizar *et al.*, 2000].

En el caso particular de los agentes analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), existen diferentes variables que complica el establecimiento de las relaciones FC-FD. Entre éstas se encuentran la dificultad inherente en la medición del dolor y por tanto del efecto analgésico, la ausencia de un punto final preciso de la respuesta, la naturaleza del episodio doloroso, las diferencias interindividuales de los pacientes, los fenómenos de tolerancia, los efectos irreversibles, así como la activación de los sistemas endógenos para el control del dolor (Walker, 1995).

Mientras que es claro que la actividad analgésica de los opioides está mediada por el acoplamiento del fármaco con su receptor, se supone que la analgesia producida por los AINEs se debe, básicamente a su actividad indirecta de inhibición de la síntesis de prostaglandinas. Estas diferencias en los mecanismos de acción deben ser consideradas al momento de proponer modelos que relacionen la concentración con el efecto analgésico.

Ahora bien, se ha descrito que, en la práctica clínica, en ambos tipos de analgésicos suele observarse un retardo entre la aparición efecto respecto a la aparición del fármaco en sangre [Mandema y Stanski, 1996; Kietzmann *et al*, 1997]. Estos retardos suelen verse enfatizados si el fármaco se administra por vía intravenosa o si se absorbe muy rápidamente. Si la absorción es un proceso relativamente lento, entonces el retardo es menos marcado. Por ello, no es extraño observar que el curso temporal de la analgesia y de la respuesta antiinflamatoria es independiente de la vida media del fármaco.

En contraste, estos retardos no se han observado en modelos experimentales de dolor [Granados-Soto *et al*, 1993, 1995b; Stevens *et al*, 1995]. Lo anterior puede tener relación con los métodos de evaluación del dolor, usualmente mas objetivos en el caso de los modelos animales, así como con el fenómeno del efecto placebo. En efecto, se considera que la administración de fármaco, pero también de placebos desencadena la liberación o activación lenta de productos analgésicos endógenos [Levine *et al*, 1978]. En todo caso, la disociación de los efectos analgésico y antiinflamatorio de este grupo de fármacos podría estar mediando también parte del retardo farmacodinámico [Walker, 1995].

EVALUACIÓN PROBABÍLISTICA DE LA EFICACIA ANALGÉSICA EN RELACIÓN A LA BIODISPONIBILIDAD DEL KETOROLAC EN PACIENTES CON DOLOR POSTOPERATORIO. Esta ampliamente documentado que el ketorolac es un AINE que se distingue de la mayoría del resto de fármacos de esta familia por su elevada potencia. Por ello, el ketorolac se empleado satisfactoriamente en el tratamiento del dolor postoperatorio, sobretodo el de severa intensidad. Sin embargo, también está claro que la mejor estrategia de dosificación, en lo correspondiente a la relación eficacia/seguridad, aún no está bien definida, ya que existen distintos reportes de toxicidad en el intervalo de dosificación recomendado. Por tanto, considerando los alcances de la teoría del análisis simultáneo farmacocinético/farmacodinámico respecto a los puntos anteriores, el objetivo de este trabajo fue establecer bases racionales para la dosificación de este potente analgésico en el tratamiento del dolor postoperatorio.

En el capítulo I de esta tesis se demostró que en una muestra de 24 pacientes procedentes de diversas cirugías, reportando una intensidad de dolor inicial muy severa, la mayoría de los casos se observó un alivio significativo durante la primera hora posterior a la administración de 30 mg i.m. de

ketorolac. Estas observaciones iniciales confirman la adecuada eficacia analgésica del KT reportada previamente en poblaciones similares de pacientes [McQuay et al., 1986; Morrow et al., 1993]. Sin embargo, la obtención del efecto analgésico máximo solo se observó después de una evolución gradual. De hecho, el ketorolac se absorbió rápidamente después de la administración intramuscular, por lo que como en otros estudios, se observó un considerable retraso entre la analgesia y las concentraciones plasmáticas del ketorolac [Flores-Murrieta y Granados-Soto, 1996; Gillis y Brogden, 1997]. Por ello, no fue posible establecer una relación entre la farmacocinética y la farmacodinamia del KT. Se ha propuesto que este retraso sea debido a una lenta transferencia desde la circulación hacia su sitio de acción [Mandema y Stanski, 1996].

Entonces, debido a la naturaleza subjetiva de la evaluación del dolor se decidió emplear un enfoque probabilístico para evaluar la adecuabilidad de la dosis de ketorolac usada. Éste enfoque, fue propuesto por Laska *et al* [1991] y se basa en analizar las propiedades de inicio de efecto y duración de un analgésico con modelos bivariados de cura, los cuales consideran tanto las distribuciones de probabilidad acumulada (los resultados observados), como las de sobrevivencia (datos censurados o incompletos). Nosotros modificamos este enfoque adaptándolo a un modelo de análisis no paramétrico Kaplan-Meiers al límite para datos censurados. Los resultados obtenidos con dicho análisis indicaron que es posible anticipar que el dolor severo o muy severo prácticamente evolucionará en todos los pacientes de esta población hasta un nivel de alivio de dolor moderado antes de una hora; también, que tal alivio evolucionará hasta un nivel adecuado antes de 3 horas y que, finalmente, perdurará por al menos 5 horas. Este perfil de eficacia analgésica fue observado en otro estudio donde el ketorolac alcanza su máximo efecto entre 3 y 4 horas después de la administración, y el efecto perdura al menos por 6 horas [Fineschi *et al*, 1997]. En otro trabajo el ketorolac, 30 mg i.m., demostró tener un tiempo de latencia (8 min para el 25% de la población y 26 min para el 50 %) inferior al de morfina 10 mg i.m.; además, el tiempo transcurrido antes de administrar la siguiente dosis fue superior a 13 horas [Rice *et al*, 1991]. Por tanto, se concluyó que después de la administración intramuscular de 30 mg de trometamina de KT a pacientes con dolor postoperatorio severo, el análisis probabilístico predice un tiempo de efecto de 60 minutos, con probabilidad máxima de alcanzar el alivio total del 72 %. Entonces, no se justifica el empleo de dosis superiores a 30 mg o bien la medicación antes de una hora. Adicionalmente, de acuerdo con los resultados presentados se demuestra claramente que el efecto analgésico del ketorolac en dolor postoperatorio no puede ser predicho puramente con la información farmacocinética.

Por otra parte, si bien los resultados del trabajo anteriormente descrito muestran la utilidad del modelaje FC-FD con un enfoque de probabilidad en la racionalización de la dosificación del ketorolac, la propia naturaleza estadística del análisis no permite una explicación fisiológica de los mecanismos involucrados en la acción del fármaco. Además, como se ha mencionado anteriormente, los AINEs presentan una actividad analgésica/antiinflamatoria diferencial por lo que nos pareció congruente que una forma de plantear todo el potencial del análisis integrado FC/FD, fuera el abordar la relación entre la concentración plasmática y el efecto antiinflamatorio de otros AINEs desde un punto de vista más fisiológico.

Por ello, a lo largo del resto de este capítulo se discuten desde una perspectiva comparativa los diferentes enfoques que se pueden emplear en la interpretación de la información farmacocinética y farmacodinámica del tolmetín y del naproxén. Además, debido a las particularidades de estos fármacos (unión a proteínas plasmáticas elevada y saturable) se evaluó, tomando como modelo al tolmetín, el efecto de la hipoalbuminemia sobre la relación FC-FD.

DIFERENCIAS FARMACOCINÉTICAS DEBIDAS AL GÉNERO. Uno de las variables que suelen llamar la atención, es el impacto del género sobre las características farmacocinéticas y farmacodinámicas de los fármacos [Beierle *et al*, 1999; Bonate, 1991; Harris *et al*, 1995; Thurman y Hompesch, 1998]. Nuestro grupo ha reportado previamente observaciones preliminares que sugieren la presencia de diferencias farmacocinéticas del tolmetín relacionadas al género [Granados-Soto *et al*, 1996]. En el capítulo 2, se han mostrado los resultados que extienden nuestras observaciones previas. En este trabajo, se estudió la farmacocinética del tolmetín después de la administración de dos niveles de diferentes dosis, 3.2 y 10 mg/kg en ratas macho y hembras. Estas dosis fueron seleccionadas como ha sido previamente reportado, ya que estas producen un efecto antinociceptivo significativo [Flores-Acevedo *et al*, 1995]. El objetivo de ese estudio fue poner de manifiesto la relevancia de las diferencias farmacocinéticas entre géneros y con ello elegir la conveniencia de uno u otro en los estudios subsecuentes. Por ello, el abordaje empleado en esta parte del trabajo fue el análisis no compartimental. Utilizando este enfoque pudimos apreciar que la vida media del tolmetín fue aproximadamente dos veces más alto en hembras que en machos. Como consecuencia de una vida media prolongada, los valores de ABC en hembras fueron más altas en hembras que en machos. La depuración del tolmetín fue significativamente más bajo en hembras que en machos. Estos resultados sugieren que la eliminación del tolmetín está reducida en las hembras con respecto a los

machos. El hecho de que no hubiera diferencias significativas de la vida media y depuración entre las dosis a través de un género dado sugiere que la eliminación del tolmetín en ambos hembras y machos es lineal. Es bien conocido que la actividad del citocromo P450 es mayor en machos que hembras [Kato y Yamazoe, 1992]. Además, la presencia de formas específicas del género de citocromo P450 en ratas, referidas como P450 de macho P450 de hembras, ha sido reportado en la rata [Ryan *et al*, 1984]. El citocromo P450 está involucrado en la biotransformación del tolmetín a los metabolitos hidroxilados y carboxilados [Insel, 1995]. Por lo que es probable que las diferencias farmacocinéticas relacionadas al género observadas en la rata sean debidas a variaciones en la actividad de las isoformas del citocromo P450. Nuestros resultados sugieren que no existe diferencias en la absorción del tolmetín relacionadas al género, puesto que no existieron diferencias significativas entre hembras y machos en los parámetros concentración máxima y tiempo a la concentración máxima.

En cualquier caso, la variabilidad mostrada en las hembras tanto en los datos originales, como posteriormente en los parámetros, condujo a la definición de que las ratas machos eran más convenientes para el resto de los estudios que conforman esta tesis. Entonces, en vista de que los presentes resultados confirman evidencias preliminares sobre la existencia de diferencias relacionadas al género en la eliminación del tolmetín al menos en la rata. Resta por ser investigado, si estos resultados pueden ser extrapolados a otras especies, y son relevantes terapéuticamente para el caso de los humanos.

INFLUENCIA DE LA UNIÓN A PROTEÍNAS PLASMÁTICAS SOBRE LA FARMACOCINETICA.. Durante mucho tiempo se ha asumido que la unión a las proteínas plasmáticas limita el acceso de los AINEs al espacio intersticial perivascular [Lin *et al*, 1987]. Esta posibilidad es una consideración importante en la terapia dado que la respuesta clínica a los AINEs debería corresponder con las concentraciones dentro del tejido inflamado que a aquellas medidas en el sistema vascular. Simkin *et al* [1994], han propuesto que la trascendencia de la unión a proteínas de los AINEs es mas bien limitada ya que estos fármacos en general tienen elevados grados de unión (>90%), y una variación en la unión debería conducir a incrementos en la vida media de eliminación, lo cual no se ha demostrado. En nuestro trabajo, un estado de hipoalbuminemia moderado incrementó la fracción libre del tolmetin en mas de 500%. Sin embargo los cambios asociados en el volumen de distribución aparente del fármaco total en plasma no alcanzaron a ser significativamente correspondientes con el incremento en la dosis del tolmetin, según la predicción teórica.

Teóricamente se ha establecido que el volumen de distribución depende del volumen del plasma, del volumen del líquido extravascular, así como de la fracción libre del fármaco en plasma y tejidos [Mackichan, 1992; Tozer, 1984; Oie *et al.*, 1980]. Interesantemente, en el grupo experimental sometido a PLF y administrado con 100 mg/kg de tolmetin po. se observó una tendencia a disminuir el valor del volumen de distribución respecto a las ratas intactas. A este respecto, se sabe que bajo condiciones fisiológicas, la proporción de albúmina en el espacio extravascular es mayor que la presente en el líquido plasmático. Sin embargo, dado que la afinidad de un fármaco por un sitio de unión sobre la proteína es igual en cualquier sitio, es el flujo de recambio de albúmina desde el plasma hacia el espacio extravascular, lo que limitaría la concentración libre de fármaco en ambos sitios. En todo caso, dado que la concentración de albúmina es mayor en el plasma, se anticipa que existirá una fracción libre mayor del fármaco [Guyton y Hall, 1998].

Entonces, en un estado de hipoalbuminemia la disminución de la concentración de albúmina disminuye la presión coloidosmótica provocando un flujo neto de salida de líquido (edema extravascular) y un incremento en la fracción libre del fármaco. No obstante, también se ha descrito que puede ocurrir un aumento en la permeabilidad capilar. Por tanto, para tratar de mantener el equilibrio de presión, podría generarse una fuga de albúmina desde el espacio extravascular hacia el plasma, incrementando consecuentemente la fracción libre en tejidos. Entonces, aparentemente esta fracción libre extravascular, la cual no es posible medir experimentalmente, parece jugar un papel de contrapeso al aumento de la fracción libre en plasma.

INFLUENCIA DE ALTERACIÓN EN LA UNIÓN A PROTEINAS PLASMATICAS SOBRE EL EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE LOS AINES. Farmacodinámicamente, el estado de hipoalbuminemia se reflejó en un cambio en el comportamiento del curso temporal de la inflamación: Es decir, al comparar los cursos temporales del volumen desplazado después de la administración de carragenina en ratas intactas (control) e hipoalbuminémicas, fue evidente que la PLF inhibió la capacidad inflamatoria del tejido. Es conocido que bajo condiciones normales, en un estado agudo de inflamación el aumento en la permeabilidad capilar genera la fuga de líquido hacia el espacio extravascular circundante al tejido lesionado. Este aumento en la permeabilidad capilar también permite que exista un flujo mayor de proteínas en tal espacio (transudado), lo que incrementa la presión oncótica y atrae más líquido, traducándose en el fenómeno inflamatorio observado. No obstante, cuando existe un estado de hipoalbuminemia, la cantidad de proteínas disponibles para ser transudadas es mucho menor, lo que

en nuestro estudio pareció traducirse en una capacidad inflamatoria disminuida, prácticamente a la mitad, no solo en cuanto a magnitud (vista como área bajo la curva), sino también como un incremento en el tiempo necesario para alcanzar el pico de inflamación.

Bajo esas condiciones, el tratamiento del cuadro inflamatorio con una dosis de 100 mg/kg de tolmetin, no incrementó la capacidad antiinflamatoria del AINE. De hecho, a esa misma dosis parecía haberse ya alcanzado el máximo efecto antiinflamatorio del tolmetin en ratas sin PLF. En efecto, el efecto antiinflamatorio del tolmetin evaluado de manera global a través del área bajo la curva de % de protección (una variable derivada) contra tiempo, mostró una eficacia dependiente de la dosis hasta el nivel de 32,56 y 100 mg/kg donde pareció alcanzar el máximo.

Es conveniente, entonces, remarcar que la falta de un efecto antiinflamatorio total puede explicarse desde dos puntos de vista. Primero, debido a que el estímulo inflamatorio debido a la administración de carragenina, que desencadena una variedad de eventos de mecanismos intra y extracelulares, de los que en un principio destaca la liberación histamina y serotonina. Estas aminas biogénicas son agentes que rápidamente (30-60 min) promueven incrementos en el calibre vascular, así como de la permeabilidad capilar y del flujo sanguíneo [Chang y Tsurufuji, 1976]. Esta fase inicial de la inflamación es insensible a la acción de los AINEs y aún a los esteroides [Seibert *et al*, 1994, Hargreaves *et al*, 1988]. Por otra parte, la actividad intrínseca del tolmetin como inhibidor no selectivo de la COX, no pareció ser suficiente para inhibir por completo la fase de sostenimiento de la inflamación, aparentemente mediada por entre otros agentes, los prostanoides.

EL MODELO FC-FD DE RESPUESTAS FISIOLÓGICAS INDIRECTAS PARA EVALUAR EL CURSO TEMPORAL DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE LOS AINES Y LAS VARIABLES QUE LO DETERMINAN.

Se ha sugerido que con el fin de elegir el modelo FC-FD mas apropiado, es esencial identificar el o los procesos biológicos que están implicados en el desencadenamiento de una respuesta inducida por un fármaco. Eventualmente los procesos FC, la distribución a la biofase, la interacción fármaco-receptor, la transducción de señales y los eventos post-receptor son factores que alteran el comportamiento farmacodinámico de un compuesto. Cuando es posible contar con la información anterior, aunque sea parcialmente, es posible vincular la FC y la FD con un soporte fisiológico real en vez solo números y ecuaciones abstractas [Pérez-Urizar *et al*, 2000].

El diseño de este tipo de modelos, fundamentados en hechos fisiológicos ha venido ganando terreno en la interpretación de la acción farmacológica de agentes, cuando se sabe que el efecto medido es el reflejo de la activación/desactivación de mas de un sistema biológico [Jusko y Ko, 1994]. En el caso particular de los AINEs, en nuestro conocimiento, no hay descripciones en la literatura donde se proponga un modelo matemático para caracterizar la actividad antiinflamatoria de los AINEs *in vivo*. En todo caso se han publicado reportes acerca de la actividad antiplaquetaria *in vitro* o *ex vivo* para la aspirina, naproxen, indometacina, ibuprofen, (s)-etodolac y (s)-ketoprofen, así como estudios que mencionan por separado la posible relación entre la FC y el efecto antiinflamatorio del naproxen [Castañeda-Hernández *et al*, 1995]. Esta falta de información probablemente sea debida a las dificultades técnicas para medir la respuesta *in vivo*. Por otra parte, en el caso del efecto analgésico si se han propuesto modelos que relacionan la FC y la FD del tolmetín, tanto a través del enfoque del compartimento del efecto como por modelos de respuestas indirectas [Flores-Acevedo *et al*, 1995; Flores-Murrieta *et al*, 1998]. Sin embargo, la caracterización del retraso del efecto analgésico respecto a la concentración de varios AINEs, debido a procesos de distribución con diferentes velocidades [Torres-Lopez *et al*, 1997], sería poco aplicable al caso del efecto antiinflamatorio, debido a que se conocen relativamente bien los procesos implicados en la generación de la respuesta inflamatoria y su velocidad suele ser mayormente limitante que el correspondiente a un proceso de distribución.

En este trabajo (capítulos V y VI) se han planteado modelos FC-FD de respuestas fisiológicas indirectas para la predicción del curso temporal del efecto antiinflamatorio de dos AINEs. Es decir, hemos hecho uso de consideraciones fisiológicas para obtener estimaciones de parámetros con base biológica. Entre éstos, se destaca la consideración de un compartimento donde se han de sintetizar los mediadores de la inflamación. El modelo supone que este compartimento no se mantiene activado de manera continua sino por un período limitado de tiempo. En ese sentido, cabe señalar que aunque se han descrito una multitud de mediadores que actúan en el proceso inflamatorio tanto de manera secuencial como en paralelo, los prostanoïdes parecen ser responsables de la amplificación y mantenimiento de la respuesta inflamatoria mas significativa [Vane y Boung, 1974]. En la literatura existen diferentes referencias a la actividad finita tanto de la síntesis del RNA mensajero para la COX-2, la isoenzima presuntamente responsable de la síntesis de PGs en condiciones de inflamación aguda [Seibert *et al*, 1994]. Posteriormente, una vez que la enzima ha sido liberada, su actividad de síntesis de PGE₂, PGI, entre otras PGs aumenta rápidamente y se mantiene una tasa constante por

un cierto período de tiempo [Zhang *et al*, 1997]. Al final, las PG's son degradadas con una tasa de velocidad de primer orden [Rosenkranz *et al*, 1980].

Debido a que cada una de las etapas involucradas durante la inflamación mediada por prostanoideos, fue incluida en el modelo FC-FD de respuestas indirectas, este modelo parece ser útil como no solo en la descripción sino, también en la predicción del curso temporal del efecto antiinflamatorio de los AINEs. Esta aseveración se fundamenta en que, si bien fue inicialmente diseñado para explicar el efecto del curso temporal de la concentración total del naproxen sobre su actividad antiinflamatoria en un modelo de inflamación aguda, los parámetros derivados correspondientes al sistema biológico (K_{in} , K_0 , K_{syn} , K_{out} y T_{syn} , ver capítulos V y VI), son congruentes para el caso del tolmetin. Cabe mencionar que en el caso de este último AINE, su farmacocinética no lineal, tanto en los mecanismos de eliminación como en la unión a proteínas fue incluida y se evaluó su impacto sobre el efecto antiinflamatorio. Interesantemente, el modelo poblacional FC-FD supone que el efecto antiinflamatorio de tolmetin (y eventualmente de naproxen), se debe a la concentración total del fármaco en plasma sobre la producción de los mediadores de la inflamación inducidos por la administración de carragenina. Por tanto, asume también que el efecto de la unión a proteínas plasmáticas como tal, no es trascendente sobre la farmacodinamia, y en su lugar asume que la concentración de albúmina es una covariable no lineal del tiempo de síntesis de mediadores (T_{syn}) y de la propia constante de síntesis de los mediadores inflamatorios (K_0). Además, asocia la variabilidad interindividual en la respuesta con los parámetros que determinan la disipación del efecto medido (K_{out}), el volumen basal de la pata de la rata (E_0), y la potencia *in vivo* del AINE (CI_{50}) sobre el sistema.

En resumen, puede decirse que la elección de un tipo de modelo o aún la forma de abordar este, depende del objetivo del estudio, de las variables implicadas, así como de las herramientas de análisis de datos con que se cuente. De esa manera, una vez demostrado que realmente el género se puede considerar una variable importante en la farmacocinética de AINEs como el tolmetin, se eligieron ratas machos como sujetos de experimentación en los protocolos FC-FD. Por otra parte, se demostró que la modificación en la concentración de proteínas inducida por la plasmaféresis, modificó tanto las propiedades de unión, como el efecto antiinflamatorio del tolmetin. No así se encontraron diferencias en los parámetros farmacocinéticos de este AINE en ratas hipoalbuminémicas, en su lugar el enfoque poblacional demostró que el tolmetin exhibe una

eliminación saturable. Ahora bien, el acoplamiento de este enfoque poblacional de efectos mixtos a un modelo FC-FD fisiológicamente basado, permitió explicar el curso temporal de la inflamación así como del efecto antiinflamatorio de naproxén y de tolmetin. En el caso de este último, también permitió la caracterización de la concentración de albúmina como una covariable predictora de la influencia de la hipoalbuminemia sobre el efecto antiinflamatorio del AINE. Finalmente, puede señalarse que ésta estrategia de análisis permite una predicción individualizada del curso temporal de la farmacocinética y/o la farmacodinamia, cuando se emplea la regresión bayesiana, utilizando los parámetros poblacionales promedio como estimados iniciales [Mandema *et al*, 1992; Jelliffe *et al*, 1993; Balant y Gex-fabry, 2000]. Estas herramientas son una ayuda promisoría en la elucidación de las fuentes de variabilidad presentes en los estudios clínicos, y habrán de permitir una estrategia mas razonable en el diseño de regímenes de dosificación verdaderamente individualizados [Aarons, 1997].

CONCLUSIONES

1. Empleando un enfoque probabilístico de análisis, el cual no permite el discernimiento de las variables fisiológicas implicadas, se puede predecir que después de la administración intramuscular de 30 mg de trometamina de KT a pacientes con dolor postoperatorio severo, el tiempo necesario para observar un efecto analgésico significativo es de 60 minutos, con probabilidad máxima de alcanzar el alivio total del 72 %. Por lo tanto, no se justifica el empleo de dosis superiores a 30 mg o bien la medicación antes de una hora ya que esto sólo eleva la probabilidad de efectos adversos, sin aumentar la probabilidad de un mayor efecto analgésico.
2. La vida media del tolmetín se incrementó significativamente en ratas hembra comparadas con los machos. Como consecuencia, la biodisponibilidad del tolmetín oral en las hembras es significativamente mayor que en los machos. Las evidencias halladas, sugieren que éstas diferencias farmacocinéticas se deben a que los mecanismos de eliminación del fármaco parecen estar disminuidos en las ratas hembras comparados con los machos.
3. La disminución significativa en la concentración de albúmina después de la PLF (hipoalbuminemia moderada) se tradujo en cambios, no solo en el grado de unión (la unión se volvió dependiente de la concentración), sino en también en la afinidad de la albúmina por el tolmetín (la constante de asociación disminuyó seis veces su valor).
4. La alteración en la unión a las proteínas plasmáticas del tolmetín, durante un proceso de hipoalbuminemia moderada no influye sobre la farmacocinética del AINE. En todo caso, el aumento de la fracción libre confirma la existencia de saturación en el mecanismo de eliminación del tolmetín.
5. El acoplamiento del enfoque poblacional de efectos mixtos a un modelo FC-FD de respuestas fisiológicas indirectas, demostró que el efecto antiinflamatorio del naproxén está modulado por su farmacocinética. El modelo desarrollado asume la existencia de un compartimento donde se sintetizan y liberan los mediadores de la inflamación durante un período de tiempo limitado, y que es el blanco del fármaco.

6. El modelo FC-FD desarrollado para el naproxén puede ser considerado como de aplicación general para la actividad antiinflamatoria de otros AINEs, ya que con algunos ajustes pudo describir el impacto de la hipoalbuminemia sobre la inflamación y el efecto antiinflamatorio del tolmetín.

7. El enfoque poblacional del modelo FC-FD demostró que la concentración de albúmina es una covariable predictiva de la constante de velocidad (K_0) y el tiempo de síntesis (T_{syn}) de los mediadores de la inflamación. Además, se demostró que la disminución en la unión a proteínas plasmáticas, modifica la respuesta inflamatoria y la potencia del fármaco, pero no su efecto máximo.

REFERENCIAS

1. Aarons L. (1997). Preface in: *Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Data Analysis* Gabrielsson J & Weiner D. (2nd.edition). Swedish Pharmaceutical Press.
2. Ayres JW, Weidler DJ, Sakmar E, Wagner JG (1977). Linear and nonlinear assessment of tolmetin pharmacokinetics *Res Commun Chem Phatol Pharmacol.* 17(4): 583-93.
3. Balant LP, Gex-Fabry M. (2000) Modelling during drug development. *Eur J Pharmacokinet Biopharm.* 50:13-26.
4. Bartfield JM, Kem AM, Raccio RN. (1994). Ketorolac tromethamine use in a university-based emergency department. *Acad Emerg Med.* 1: 532-38.
5. Bauer JA, Balthasar JP, Fung HL. (1997). Application of pharmacodynamic modeling for designing time-variant dosing regimens to overcome nitroglycenn tolerance in experimental heart failure. *Pharm Res.* 14: 1140-45.
6. Beal SL, Sheiner LB (1992). *NONMEM Users guides.* NONMEM Project Group, University of California at San Francisco, San Francisco, CA
7. Behm HL, Wagner JG (1981). Parabolic equation relating free and total drug concentrations in cases of nonlinear plasma protein binding. *J Pharm Sci.* 70: 802-4.
8. Beierle I, Meibohm B, Derendorf H. (1999). Gender differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 37: 529-47.
9. Bellissant E, Sébille V, Pantaud G (1998). Methodological issues in pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling. *Clin Pharmacokinet.* 35:2 151-66.
10. Bendtzen K, Muller K, Hemer EB, Stagg A, Woo P. (1998). Inflammatory cytokines and cytokine antagonists in whole blood cultures of patients with systemic juvenile chronic arthritis. *Br J Rheumatol.* 37(5):562-9.
11. Berkowitz SS, Bernhard G, Bilka PJ, Blecham WJ, Marchesano JM, Rosenthal M, Wortham GF (1974). Tolmetin versus placebo for the treatment of rheumatoid arthritis: a sequential double-blind clinical trial *Curr Ther Res.* 16: 442-51
12. Bertin P, Lapique F, Payan E, Rigaud M, Bailleul F, Jaeger S, Treves R, Netter P. (1994) Sodium naproxen concentration and effect on inflammatory response mediators in human rheumatoid synovial fluid *Eur J Clin Pharmacol* 46(1): 3-7.
13. Bland M (1987). *Survival Data.* In: *An Introduction to Medical Statistics.* M Bland, Editor. Oxford Medical Publications, 1987 p. 288.
14. Bloomfield SS, Mitchell J, Cassell GB. (1986). Ketorolac versus aspirin for postpartum uterine pain. *Pharmacother.* 6. 247-52.
15. Bonate PL. (1991). Gender-related differences in xenobiotic metabolism. *J Clin Pharmacol* 31: 684-690.
16. Boras-Uber LA, Brackett NC. (1992). Ketorolac-induced acute renal failure. *Am J Med.* 92. 450-2
17. Borgå O y Borgå B. (1997). Serum protein binding of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. a comparative study. *J Pharm Biopharm.* 25: 63-77.
18. Boxenbaum H, DiLea C. (1995). First-time-in-human dose selection: Allometric thoughts and perspectives *J Clin Pharmacol.* 35: 957-64
19. Brocks DR, Jamali F (1992) Clinical pharmacokinetics of ketorolac tromethamine. *Clin Pharmacokinet.* 23:415-27.
20. Brown CR, Mazzulla JP, Mok MS, Nussdorf RT, Rubin PD, Schwesinger WHI (1990) Comparison of repeated doses of intramuscular ketorolac tromethamine and morphine sulfate for analgesia after major surgery. *Pharmacother* 10: 45S-50S.
21. Buckley MT, Brogden RN. (1990) Ketorolac A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential *Drugs* 39:86-109
22. Cassidy JT (1999) Medical Management of children with juvenile rheumatoid arthritis *Drugs* 58(5) 831-50
23. Castañeda-Hernández G, Caille G, du Souich P (1994) Influence of drug formulation on drug concentration-effect *Clin Pharmacokinet* 26:135-43

24. Castañeda-Hernandez G, Favari L, Hoyo-Vadillo C. (1995). Relationship between Naproxen plasma concentration and its anti-inflammatory effect in experimental hepatitis. *Drug Res.* 45: 585-589.
25. Cervero F. (1995). Visceral pain: mechanisms of peripheral and central sensitization. *Ann Med.* 27(2): 235-9.
26. Coderre TJ, Gonzales R, Goldyne ME, West J, Levine JD. (1990). Noxious stimulus-induced increase in spinal prostaglandin E2 is noradrenergic terminal dependent. *Neurosci Lett.* 115: 253-258.
27. Corelli RL, Gericke KR. (1993). Renal insufficiency associated with intramuscular administration of ketorolac tromethamine. *Ann Pharmacother.* 1993; 27:1055-7.
28. Corey A, Agnew J, Brum J, Parekh N, Valentine S, Williams M. (1999). Pharmacokinetics and pharmacodynamics following intravenous doses of azimilide dihydrochloride. *J Clin Pharmacol.* 39(12):1263-71.
29. Craig WA, Kunin CM. (1976). Significance of serum protein and tissue binding of antimicrobial agents. *Annu Rev Med.* 27: 287-300.
30. Crunkhorn P, Meacock CR. (1971). Mediators of the inflammation induced in the rat paw by carrageenin. *Br J Pharmac.* 42: 392-402.
31. Curmook AP, Robson PA, Yea CM, Moss D, Gadher S, Thomson TA, Westwood R, Ruuth E, Williamson RA. (1997). Potencies of leflunomide and HR325 as inhibitors of prostaglandin endoperoxide H synthase-1 and -2: comparison with nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *J Pharmacol Exp Ther.* 282(1): 339-47.
32. Chan TY (1995). Adverse interactions between warfarin and nonsteroidal anti-inflammatory drugs: mechanisms, clinical significance, and avoidance. *Ann Pharmacother.* 29(12): 1274-83.
33. Chang WC, Tsurufiji S. (1976). Differences in the mode of exocytic reaction between early phase and late phase of carrageenin-induced inflammation in rats. *Eur J Pharmacol.* 36(1):7-14.
34. Dasgupta A, Volk A. (1996). Displacement of valproic acid and carbamazepine from protein binding in normal and uremic sera by tolmetin, ibuprofen, and naproxen: presence of inhibitor in uremic serum that blocks valproic acid-naproxen interactions. *Ther Drug Monit.* 18(3): 284-7.
35. Davies NM, Anderson KE. (1997). Clinical pharmacokinetics of naproxen. *Clin Pharmacokinet.* 32: 268-293.
36. Dayneka NL, Garg V, Jusko W. (1993). Comparison of four basic models of indirect pharmacodynamic responses. *J Pharmacokin Biopharm.* 21: 457-78.
37. Delmas PD. (1995). Non-steroidal anti-inflammatory drugs and renal function. *Br J Rheumatol.* 34 Suppl 1: 25-8.
38. Della Paschoa OE, Kruk MR, Danhof M. (1998). Pharmacokinetic/pharmacodynamic modelling of behavioural responses. *Neurosci Biobehav Rev.* 23(2): 229-36.
39. Derendorf H, Meibohm B. (1999). Modeling of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) relationships: concepts and perspectives. *Pharm Res.* 16(2):176-85.
40. Di Rosa M, Groud JP, Willoughby DA. (1970). Studies of the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. *J Path.* 104: 15-28.
41. Dickenson AH (1996). Pharmacology of pain transmission and control. In: JN Campbell, Editor. *Pain 1996-An Updated Review. Refresher Course Syllabus.* IASP Committee on Refresher Courses. IASP Press-Seattle. p. 113.
42. Dromgoole SH, Furst DE, Desiraju RK, Nayak RK, Kirschenbaum MA, Paulus HE. (1982). Tolmetin kinetics and synovial prostaglandin E levels in rheumatoid arthritis. *Clin Pharmacol Ther.* 32: 371.
43. Du Souich P, Verges J, Erill S. (1993). Plasma protein binding and pharmacological response. *Clin Pharmacokinet.* 24(6): 435-440.
44. Ehrlich E, Dallob A, De Lepeleire I, Hecken A, Riendeau D, Yuan W, Porras A, Wittreich J, Seibold J, De Schepper P, Mehlich D, Gertz B. (1999). Characterization of rofecoxib as a cyclooxygenase-2 isoform inhibitor and demonstration of analgesia in the dental pain model. *Clin Pharmacol Ther.* 65: 336-347.

45. Ehrlich GE. (1983). Long-term therapy with tolmetin in rheumatoid arthritis. *Clin Pharmacol* 23: 287-300.
46. el-Masri HA, Thomas RS, Benjamin SA, Yang RS. (1995). Physiologically based pharmacokinetic/pharmacodynamic modelling of chemical mixtures and possible applications in risk assessment. *Toxicol* 105: 275-82.
47. Ericsson H, Fakt C, Jolin-Mellgard A, Nordlander M, Sohtell L, Sunzel M, Regardh CG. (1999). Clinical and pharmacokinetic results with a new ultrashort-acting calcium antagonist, clevidipine, following gradually increasing intravenous doses to healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol*. 47(5):531-8.
48. Ferreira SH, Moncada S, Parson M, Vane JR. (1974). The concomitant release of bradykinin and prostaglandin in the inflammatory response to carrageenin. *Br J Pharmacol*. 52(1):108-109.
49. Fineschi G, Tamburelli FC, Francucci BM. (1997). Oral diclofenac dispersible provides a faster onset of analgesia than intramuscular ketorolac in the treatment of postoperative pain. *Clin Drug Invest*. 13:1-7
50. Fitzgerald GA, Brash AR, Falardeau P, Oates JA (1980). Estimated rate of prostacyclin secretion into the circulation of normal man. *J Clin Invest*. 68: 1272-1275.
51. Flores-Acevedo DM, Flores-Murrieta FJ, Castañeda-Hernández G, López-Muñoz FJ. (1995). Potentiation of the analgesic effect of tolmetin, a potent non-steroidal antiinflammatory drug by caffeine in the rat. *Pharm Sci* 1: 441-444.
52. Flores-Murrieta FJ, Granados-Soto V. (1996). Pharmacologic properties of ketorolac tromethamine: a potent analgesic drug *CNS Drug Reviews*. 2. 75-90.
53. Flores-Murrieta FJ, Granados-Soto V, Hong E (1994). Determination of ketorolac in blood and plasma samples by high-performance liquid chromatography. *Boll Chim Farm*. 133: 588-91.
54. Flores-Murrieta FJ, Ko HC, Flores-Acevedo DM, Lopez-Munoz FJ, Jusko WJ, Sale ME, Castaneda-Hernandez G J. (1998). Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of tolmetin antinociceptive effect in the rat using an indirect response model: a population approach. *J Pharmacokinet Biopharm*. 26(5): 547-57
55. Friedman H, Greenblatt DJ, Peters GR, Metzler CM, Charlton MD, Harmatz JS, Antal EJ, Sanborn EC, Francom SF. (1992). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of oral diazepam: effect of dose, plasma concentration, and time. *Clin Pharmacol Ther*. 52(2):139-50
56. Furst DE, Dromgoole SH, Desiraju RK, Paulus HE. (1983). Clinical pharmacology of tolmetin: comparisons in rheumatoid arthritis patients and normal volunteers. *J Clin Pharmacol* 23: 329-35
57. Fuseau E, Sheiner LB (1984). Simultaneous modeling of pharmacokinetics and pharmacodynamics with a nonparametric pharmacodynamic model. *Clin Pharmacol Ther* 35: 733-41.
58. Gabrielsson JI, Weiner DL (1999) Methodology for pharmacokinetic/pharmacodynamic data analysis. *PSTT* 26 244-52
59. Garg V and Jusko W. (1994). Pharmacodynamic modeling of nonsteroidal antiinflammatory agents, antipyretic effect of ibuprofen *Clin Pharmacol Ther* 55: 87-88.
60. Garrido MJ, Valle M, Calvo R, Trocóniz IF. (1999). Altered plasma and brain disposition of and pharmacodynamics of methadone in abstinent rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 288: 179-187.
61. Gierse JK, Koboldt CM, Walker MC, Seibert K, Isakson PC. (1999). Kinetic basis for selective inhibition of cyclooxygenases. *Biochem J* 339 (3):607-14.
62. Gilroy DW, Tomlinson A, Willoughby DA. (1998). Differential effects of inhibitors of cyclooxygenase (cyclooxygenase 1 and cyclooxygenase 2) in acute inflammation. *Eur J Pharmacol*. 355: 211-217
63. Gillis JC, Brogden RN. (1997) Ketorolac: A reappraisal of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic use in pain management. *Drugs*. 53: 139-88.
64. Gozzi P, Pahlman I, Palmer L, Gronberg A, Persson S (1999). Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of the immunomodulating agent susalmod and experimentally induced tumor necrosis factor- α levels in the mouse. *J Pharmacol Exp Ther* 291 199-203
65. Granados-Soto V, Flores-Murrieta FJ, Lopez-Munoz FJ, Salazar LA, Villarreal JF, Castaneda-Hernandez G (1992) Relationship between paracetamol plasma levels and its analgesic effect in the rat. *J Pharm Pharmacol* 44(9) 741-4

66. Granados-Soto V, Lopez-Muñoz FJ, Castañeda-Hernández G, Flores-Murrieta FJ. (1993). Characterization of the analgesic effect of paracetamol and caffeine combinations in the pain-induced functional impairment model in the rat. *J Pharm Pharmacol.* 45(7): 627-31.
67. Granados-Soto V, Flores-Murrieta FJ, Castañeda-Hernández G, López-Muñoz FJ. (1995a). Evidence for the involvement of nitric oxide in the antinociceptive effect of ketorolac. *Eur J Pharmacol.* 277: 281-84.
68. Granados-Soto V, López-Muñoz F, Hong E, Flores-Murrieta FJ. (1995b). Relationship between pharmacokinetics and the analgesic effect of ketorolac in the rat. *J Pharmacol Exp Ther.* 272: 352-356.
69. Granados-Soto V, Vidal-Cantú G, Flores-Murrieta FJ. (1996). Sex related differences in the pharmacokinetics of oral tolmetin in the rat. *Pharm. Sci.* 2: 601-3.
70. Grindel JM, Migdalof BH, Plostnieks J. (1979). Absorption and excretion of tolmetin in arthritic patients. *Clin Pharmacol Ther.* 26(1): 122-8.
71. Guyton AC, Hall JE. (1998). *Fisiología y Fisiopatología.* 6ª Ed. McGraw-Hill Interamericana. México. Cap. 13:135-136. Cap. 20:209.
72. Hanada K, Odaka K, Kudo A, Ogata H. (1999). Effects of disopyramide and verapamil on renal disposition and nephrotoxicity of cisplatin in rats. *Pharm Res.* 16(10): 1589-95.
73. Hargreaves KM, Troullos ES, Dionne RA, Schmidt EA, Schafer SC, Joris JL. (1988). Bradykinin is increased during acute and chronic inflammation: therapeutic implications. *Clin Pharmacol Ther.* 44(6): 613-21.
74. Harns RZ, Benet LZ, Schwartz JB. (1995). Gender effects in pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Drugs.* 50: 222-239.
75. Hirasawa N, Ohuchi K, Watanabe M, Tsurufuji S. (1987). Mechanism of the inhibitory action of cyclooxygenase inhibitors on leukocyte infiltration: involvement of endogenous histamine. *Eur J Pharmacol.* 144(3): 267-75.
76. Hochhaus G, Mollmann H. (1992). Pharmacokinetic/pharmacodynamic characteristics of the β_2 -agonists terbutaline, salbutamol and fenoterol. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol.* 30: 542-62.
77. Holazo AA, Brazzell RK, Colburn WA. (1986). Pharmacokinetic and pharmacodynamic modeling of cibenzone plasma concentrations and antiarrhythmic effect. *J Clin Pharmacol.* 26:336-45.
78. Holck HGO, Munir AK, Mills LM, Smith EL. (1937). Studies on sex differences in rats in tolerance to certain barbiturates and nicotine. *J Pharmacol Exp Ther.* 60: 323-335.
79. Holford NH, Sheiner LB. (1981). Understanding the dose-effect relationship: clinical application of pharmacokinetic-pharmacodynamic models. *Clin Pharmacokinet.* 6(6):429-53.
80. Hyneck ML, Smith PC, Munafo A, McDonagh AF, Benet LZ. (1988). Disposition and irreversible plasma protein binding of tolmetin in humans. *Clin Pharmacol Ther.* 44: 107-14.
81. Insel P. (1995). Analgesic-antipyretic and antiinflammatory agents and drugs employed in the treatment of gout. In: Goodman & Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 9th edition. Eds., JG Hardman, LE Limbird, PB Molinoff, RW Ruddon and A Goodman Gilman. New York. McGraw-Hill, pp. 617-657.
82. Inturnsi CE, Portenoy RK, Max MB. (1990). Pharmacokinetic-pharmacodynamic relationships of methadone infusions in patients with cancer pain. *Clin Pharmacol Ther.* 47: 565-77.
83. Jelliffe RW, Schumitzky A, Van Gulder M, Liu M, Hu L, Maire P, Gomis P, Barbaut X, Tahan B. (1993). Individualizing drug dosage regimens: roles of population Pharmacokinetic and dynamic models, Bayesian fitting, and adaptive control. *Ther Drug Monit.* 15: 380-393.
84. Jimenez M, Pérez-Urizar J, Flores-Murrieta FJ. (1999). Influence of sex on the pharmacokinetics of tolmetin in the rat. *J. Pharmacol. Toxicol.* 42:102-5.
85. Jonsson EN, Karlsson MO. (1999). Xpose: an S-PLUS based population pharmacokinetic/pharmacodynamic model building aid for NONMEM. *Comput Methods Programs Biomed.* 58: 51-64.

86. Josa M, Pérez-Urizar J, Rapado J, Dios-Viéitez C, Castañeda Hernández G, Flores-Muneta FJ, Renedo MJ, Trocóniz IF. (2001) Pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling of antipyretic and anti-inflammatory effects of naproxen in rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 297(1):198-205.
87. Jung D, Mroczak EJ, Wu AT, Ling TL, Sevelus H. (1989). Pharmacokinetics of ketorolac and p-ketorolac following oral and intramuscular administration of ketorolac tromethamine. *Pharm Res* 6: 62-5
88. Jusko WJ, Ko HC. (1994). Physiologic indirect response models characterize diverse types of pharmacodynamic effects *Clin Pharmacol Ther.* 56: 406-19.
89. Justins DM, Richardson PH. Clinical management of acute pain. In: Pain, Mechanisms and Management. Wells JCD, Woolf CJ editores. Vol. 47 New York, London: British Medical Bulletin, Churchill Livingstone, 1991. pp 561-83.
90. Karlson EW, Daltroy LH, Liang MH, Eaton HE, Katz JN. (1997). Gender differences in patient preferences may underlay differential utilization of elective surgery. *Am J Med.* 102: 524-30.
91. Kato R, Yamazoe Y. (1992). Sex-specific cytochrome P-450 as a cause of sex- and species-related differences in drug toxicity *Toxicol Lett.* 65: 661-67.
92. Kauffman RE, Nelson MV. (1992). Effect of age on ibuprofen pharmacokinetics and antipyretic response. *J Pediatr* 121 969-73.
93. Kelman AW y Whung B. (1980). Modeling of drug response in individual subjects. *J Pharmacokinetic Biopharm* 8: 115-30.
94. Kelley M, Walson P, Edge J, Cox S, Mortensen M (1992). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of ibuprofen isomers and acetaminophen in febrile children. *Clin Pharmacol Ther.* 52: 181-89.
95. Kietzmann D, Bouillon T, Hamm C, Schwabe K, Schenk H, Gundert-Remy U, Kettler D (1997). Pharmacodynamic modelling of the analgesic effects of piritramide in postoperative patients. *Acta Anaesthesiol Scand.* 41(7):888-94
96. Kleinbloessem CH, van Brummelen P, van de Linde JA. (1984). Nifedipine: Kinetics and dynamics in healthy subjects *Clin Pharmacol Ther.* 35:742-9
97. Kodama H, Kodama Y, Shinozawa S, Kanemaru R, Todaka K, Mitsuayama Y (1998). Serum protein binding kinetics of phenytoin in monotherapy patients. *J Clin Pharm Ther.* 23(5):361-5.
98. Kun-Yu WK. (1998) Biochemical pharmacology of non-steroidal anti-inflammatory drugs *Biochem Pharmacol.* 55(5):543-547
99. Landoni MF, Comas W, Mucci N, Anglarilli G, Bidal D, Lees P (1999) Enantiospecific pharmacokinetics and pharmacodynamics of ketoprofen in sheep. *J Vet Pharmacol Ther.* 22: 349-359
100. Landoni MF, Lees P. (1996). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of ketoprofen enantiomers in the horse *J Vet Pharmacol Ther.* 19: 466-474
101. Langenbach R, Loftin C, Lee C, Tian H (1999). Cyclooxygenase knockout mice. *Biochem Pharmacol.* 58: 1237-1246
102. Lanza FL, Karlin DA, Yee JP. (1987). A double-blind placebo controlled endoscopic study comparing the mucosal injury seen with an orally and parenterally administered new nonsteroidal analgesic ketorolac tromethamine at therapeutic and subtherapeutic doses. *Am J Gastroenterol.* 82:239-41.
103. Laska EM, Siegel C, Sunshine A (1991). Onset and duration: measurement and analysis *Clin Pharmacol Ther* 49:1-5.
104. Lauroba J, Domenech J, Moreno J, Delfina JM (1986). Relationships between biophase disposition and pharmacokinetic behavior in nonsteroid anti-inflammatory drugs. *Drug Res* 36 710-4
105. Levi G. (1998) Predicting effective drug concentrations for individual patients: determinants of pharmacodynamic variability *Clin Pharmacokinetic* 34. 323-5.
106. Levine JD, Gordon NC, Fields HL. (1978). The mechanism of placebo analgesia. *Lancet.* 2(8291) 654-7
107. Levy G (1976). Effect of plasma protein binding of drugs on duration and intensity of pharmacological activity. *J Pharm Sci* 65(8) 1264-65

108. Lieberman R, McMichael J. (1996). Role of pharmacokinetic-pharmacodynamic principles in rational and cost-effective drug development. *Ther Drug Monit.* 18: 423-28.
109. Lima JJ, Krukemeyer JJ, Boudoulas H. (1989). Drug- or Hormone-induced adaptation: model of adrenergic hypersensitivity. *J Pharmacokin Biopharm.* 17: 347-64.
110. Lin JH, Coccheto DM, Duggan DE. (1987). Protein binding as a primary determinant of the clinical pharmacokinetic properties of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Clin. Pharmacokin.* 12: 402-432.
111. Mackichan JJ. (1992). Influence of protein binding and use of unbound (free) drug concentrations. In: *Applied Pharmacokinetics. Principles of Therapeutic Drug Monitoring.* Edited by Evans WE, Schentag JJ, Jusko WJ. (3rd edition). Applied Therapeutics, Inc. Vancouver, WA, pp 3-1, 3-26; 65.
112. Mandema JW, Samsom LN, Dios-Véitez MC. (1991). Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Modeling of the Electroencephalographic Effects of Benzodiazepines. Correlation with Receptor Binding and Anticonvulsant Activity. *J Pharmacol Exp Ther.* 257: 472-8.
113. Mandema JW and Wada DR. (1995). Pharmacodynamic model for acute tolerance development to the electroencephalographic effects alfentanil in the rat. *J Pharmacol Exp Ther.* 275:1185-94.
114. Mandema JW, Stanski DR. (1996). Population pharmacodynamic model for ketorolac analgesia. *Clin Pharmacol Ther.* 60: 619-35.
115. Mandema JW, Verotta D, Sheiner LB. (1992). Building population pharmacokinetic-pharmacodynamic models. I. Models for covariate effects. *J Pharmacokin Biopharm.* 20(5): 511-28.
116. Martin del Campo AF, Granados-Soto V, Aguirre-Banuelos P, Cardenas M, Castañeda-Hernandez G. (1997). The use of the plasma concentration-effect relationship as a tool for the study of the mechanism of action of naloxone effects on mood and endocrine function. *G J Psychopharmacol.* 11(4): 361-5.
117. Matsuzawa T, Nomura M, Unno T. (1993). Clinical pathology reference ranges of laboratory animals. Working Group II, Nonclinical Safety Evaluation Subcommittee of the Japan Pharmaceutical Manufacturers Association. *J Vet Med Sci* 55(3): 351-62.
118. Mayer BX, Mensik C, Krishnaswami S, Derendorf H, Eichler HG, Schmetterer L, Wolzt M. (1999). Pharmacokinetic-pharmacodynamic profile of systemic nitric oxide-synthase inhibition with L-NMMA in humans. *Br J Clin Pharmacol.* 47(5): 539-44.
119. McElnay JC, D'Arcy PF. (1983). Protein binding displacement interactions and their clinical importance. *Drugs.* 25(5): 495-513.
120. McQuay HJ, Poppleton P, Carroll D. (1986). Ketorolac and acetaminophen for orthopedic postoperative pain. *Clin Pharmacol Ther.* 39: 89-93.
121. Meibohm B, Derendorf H. (1997). Basic concepts of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) modelling. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 35: 401-13.
122. Migdalof BH, Yorkey KA, Popkave CG. (1976). The time course of tolmetin and its metabolites in the plasma of individual rats and mice. *Drug Metab Dispos.* 4(5): 468-73
123. Mitchell JA, Akarasereenont, Thiemermann C, Flower RJ, Vane JR. (1994). Selectivity of nonsteroidal antiinflammatory drugs as inhibitors of constitutive and inducible cyclooxygenase. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 90: 11693-7.
124. Morrow BC, Bunting H, Milligan KR. (1993). A comparison of diclofenac and ketorolac for postoperative analgesia following day-case arthroscopy of the knee joint. *Anaesthesia.* 48: 585-7.
125. Mrosczak EJ, Jung D, Yee J. (1990). Ketorolac tromethamine pharmacokinetics and metabolism after intravenous, intramuscular and oral administration in humans and animals. *Pharmacotherapy.* 10: 33s-39s.
126. Mrosczak EJ, Jung D, Yee J. (1990). Ketorolac tromethamine pharmacokinetics and metabolism after intravenous, intramuscular and oral administration in humans and animals. *Pharmacotherapy* 1990; 10:33s-39s.
127. Murray RP, Watson RC. (1993). Acute renal failure and gastrointestinal bleed associated with postoperative toradol and vancomycin. *Orthopedics.* 16:1361-3.
128. Myles PS, Hunt JO, Moloney JT. (1997). Postoperative "minor" complications. Comparison between man and women. *Anaesthesia.* 52: 300-306.

129. Nagashima R, O'Reilly RA, Levy G (1969). Kinetics of pharmacologic effects in man: the anticoagulant action of warfarin. *Clin Pharmacol Ther.* 10: 22-35.
130. Nantel F, Denis D, Gordon R, Northey A, Cirino M, Metters K, Chung Chan C. (1999). Distribution and regulation of cyclooxygenase-2 in carrageenan-induced inflammation. *Br J Pharmacol.* 128: 853-853.
131. Nicholas GS, Barron DH. (1984). The use of sodium amytal in the production of anesthesia in the rat. *J Pharmacol Exp Ther.* 46: 223-6.
132. Notari RE. (1986). The Distribution of Drugs. In: *Textbook of Biopharmaceutics and Clinical Pharmacokinetics*. Marcel Dekker 4th ed. pp 83-91.
133. Oie S, Guentert TW, Tozer TN. (1980). Effect of saturable binding on the pharmacokinetics of drugs: a simulation. *J Pharm Pharmacol.* 32(7): 471-7.
134. Pearce CJ, González FM, Wallin JD. (1993). Renal failure and hyperkalemia associated with ketorolac tromethamine. *Arch Intern Med.* 153: 1000-1002.
135. Peck CC, D'Argenio DZ, Rodman JH (1992). Analysis of pharmacokinetic data for individualizing drug dosage regimens. In: *Applied Pharmacokinetics. Principles of Therapeutic Drug Monitoring*. Edited by Evans WE, Schentag JJ, Jusko WJ (3rd.edition) Applied Therapeutics, Inc. Vancouver, WA, pp 3-1, 3-26.
136. Pérez-Urizar J, Granados-Soto V, Flores-Murneta FJ, Castañeda-Hernández G. (2000). Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Modelling. Why?. *Arch Med Res.* 31: 539-45.
137. Peterson CE, Kwaan HC. (1986). Current concepts of warfarin therapy. *Arch Intern Med.* 146(3). 581-4
138. Pichette V, Geadah D, Du Souich P. (1996). The influence of moderate hypoalbuminaemia on the renal metabolism and dynamics of furosemide in the rabbit. *Br J Pharmacol.* 119(5):885-890.
139. Piquette-Miller M, Jamah F. (1995). Influence of severity of inflammation on the disposition kinetics of propranolol enantiomers in ketoprofen-treated and untreated adjuvant arthritis. *Drug Metab Dispos.* 23(2):240-5
140. Pritchard JF, O'Neill PJ, Affrime MB, Lowenthal DT (1984). Influence of uremia and hemodialysis on the protein binding. *Pharmacology* 29(6). 312-9
141. Quan DJ, Kayser RS. (1994). Ketorolac induced acute renal failure following a single dose. *Clin Toxicol.* 32 305-9.
142. Rabasseda X. (1992) Nimesulide: a selective cyclooxygenase 2 inhibitor antunflamatory drug. *Drugs of today.* 32 (suppl. D):1-23.
143. Ragueneau I, Laveille C, Jochemsen R, Resplandy G, Funck-Brentano C, Jaillon P (1998). Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of the effects of ivabradine, a direct sinus inhibitor, on heart rate in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther.* 64. 192-203.
144. Rice AS, Lloyd J, Miller CG (1991). A double-blind study of the onset of analgesia following intramuscular administration of ketorolac tromethamine in comparison to intramuscular morphine and placebo. *Anaesthesia* 46. 541-44
145. Robbins S, Cotran R, Kumar V. (1990). *Patología estructural y funcional*. 4ª. Ed. Interamericana-McGraw Hill. Madrid, España. Vols I: 11-14, 39-71 y Vol. II: pp. 994-998.
146. Rooks WH, Tolomonis AJ, Maloney PJ, Wallace MB, Schuler ME. (1982). The analgesic and anti-inflammatory profile of (+)-5-benzoyl-1,2-dihydro-3H-pyrrolo[1,2-a]pyrrole-1-carboxylic acid (RS-37619). *Agents Actions* 12: 684-90
147. Rosenkranz B, Fischer C, Weimer KE, Frolich JC. (1983). Metabolism of prostacyclin and 6-keto-prostaglandin F1 alpha in man. *J Biol Chem* 255(21): 10194-8
148. Roskos LK, Boudnot FD (1990). Effects of dose and sex on the pharmacokinetics of piroxicam in the rat. *Biopharm Drug Disposition* 11. 215-25
149. Rowland M y Tozer TN. (1989). Section Five. Distribution Kinetics. In: *Clinical Pharmacokinetics. Concepts and Applications*. 2ª Ed. Lea & Febiger. Philadelphia, USA, pp 297-322, 469-61

150. Ryan DE, Dixon E, Evans RH, Ramanathan L, Thomas PE, Wood AW, Levin W. (1984). Rat hepatic cytochrome P-450 isozymes specificity for the metabolism of the steroid sulfate 5 α -androstane-3 α , 17 β -diol-3,17 disulfate. *Arch Biochem Biophys.* 235: 636-42.
151. Sabater J, Domenech J, Obach R. (1992). Pharmacokinetic Study of tolmetin en the rat. *Arsneimittelforschung.* 42(7): 950-3.
152. Schoch PH, Ranno A, North DS. (1992). Acute renal failure in an elderly woman following intramuscular ketorolac administration. *Ann Pharmacother.* 26:1233-36
153. Seibert K, Zhang Y, Leahy K, hauser S, Masferrer J, Perkins W, Lee L, Isakson P. (1994). Pharmacological and biochemical demonstration of the role of ciclooxigenase-2 in inflammation and pain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 91(25): 12013-7.
154. Sharma S, Prasad A, Anand KS. (1999). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the management of pain and inflammation: a basis for drug selection. *Am J Ther.* 6(1): 3-11.
155. Sheiner LB, Stanski DR, Vozeh S. (1979). Simultaneous modelling of pharmacokinetics and pharmacodynamics: Application to d-tubocurarine. *Clin Pharmacol Ther.* 25: 358-71.
156. Sheiner LB, Beal SL. (1983). Evaluation of methods for estimating population pharmacokinetic parameters. III. Monoexponential model: routine clinical pharmacokinetic data. *J Pharmacokin Biopharm.* 11(3): 303-19.
157. Sheiner LB, Stanski DR, Vozeh S, Miller RD, Ham J. (1979). Simultaneous modeling of pharmacokinetics and pharmacodynamics: application to d-tubocurarine. *Clin Pharmacol Ther.* 25:358-71.
158. Siegel C, Sunshine A, Richman H. (1989). Meptazinol and morphine in postoperative pain assessed with a new method for onset and duration. *J Clin Pharmacol.* 29:1017-25.
159. Simkin PA, Wu MP, Foster DM. (1993). Articular pharmacokinetics of protein-bound antirheumatic agents. *Clin Pharmacokinet.* 25(4):342-50.
160. Sjöholm I, Kober A, Odar-Cederlof I, Borga O. (1976). Protein binding of drugs in uremic and normal serum: the role of endogenous inhibitors. *Biochem.Pharmacol.* 25: 1205-13.
161. Smith CJ, Zhang Y, Koboldt CM, Muhammad J, Zweifel BS, Shaffer A, Talley JJ, Masferrer J, Seibert, Isakson PC. (1998) Pharmacological analysis of cyclooxygenase-1 in inflammation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 95: 13313-8.
162. Smith CM, Reynard AM. (1992). *Textbook of Pharmacology.* Edit. Saunder Co. Philadelphia, USA. pp. 401-430.
163. Smith K, Halliwell RM, Lawrence S. (1993). Acute renal failure associated with intramuscular ketorolac. *Anaesth Intensive Care.* 21: 700-2.
164. Spindler JS, Mehlisch D, Brown CR. (1990). Intramuscular ketorolac and morphine in the treatment of moderate to severe pain after major surgery. *Pharmacother.* 10: 51S-58S.
165. Steimer JL, Ebelin ME, Van Bree J. (1993). Pharmacokinetic and pharmacodynamic data and models clinical trials. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet.* 18: 61-76.
166. Stevens AJ, Martin SW, Brennan BS, McLachlan A, Gifford LA, Rowland M, Houston JB. (1995). Regional drug delivery II: relationship between drug targeting index and pharmacokinetic parameters for three non-steroidal anti-inflammatory drugs using the rat air pouch model of inflammation. *Pharm Res.* 12(12): 1987-96.
167. Suri A, Grundy BL, Derendorf H. (1997). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of enantiomers of ibuprofen and flurbiprofen after oral administration. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 35:1-8.
168. Taylor RJ, Salata JJ. (1976). Inhibition of prostaglandin synthetase by tolmetin (tolectin, McN-2559), a new non-steroidal antiinflammatory agent. *Biochem. Pharmacol.* 25: 2479-84.
169. Thurmann PA, Hompesch BC. (1998). Influence of gender on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 36: 586-590.
170. Torres-Lopez JE, Lopez-Munoz FJ, Castaneda-Hernandez G, Flores-Murrieta FJ, Granados-Soto V. (1997) Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of the antinociceptive effect of diclofenac in the rat. *J Pharmacol Exp Ther.* 282(2): 685-90.

171. Tozer TN. (1984). Implications of altered plasma protein binding in diseases states. In: Pharmacokinetic Basis for Drug Treatment. Edited by LZ Benet. . Raven press. NY, USA. pp 173-193.
172. Trocóniz IF, Armenteros S, Planelles MV, Benítez J, Calvo R, Domínguez R. (2000). Pharmacokinetic-pharmacodynamic modelling of the antipyretic effect of two oral formulations of ibuprofen. *Clin Pharmacokinet.* 2000 38(6): 505-18.
173. Ucelay M, Lasheras B, Cenarruzabeitia E. (1988). Pharmacological study of the new nonsteroidal antinflammatory agent 4'-acetamidophenyl-2-(5'-p-toluy-1'-methylpyrrole)acetate. *Arzeim. Forsch./Drug Res.* 38(1):546-551.
174. Unackat JD, Bartha F, Sheiner LB. (1986). Simultaneous modeling of pharmacokinetics and pharmacodynamics with nonparametric kinetic and dynamic models. *Clin Pharmacol Ther.* 40: 86-93.
175. Uziel Y, Hashkes PJ, Kassem E, Padeh S, Goldman R, Vollach B. (2000). The use of naproxen in the treatment of children with rheumatic fever. *J Pediatr.* 137(2): 269-71.
176. Van Peer A, Snoeck E, Huang ML, Heykants J. (1993). Pharmacokinetic-pharmacodynamic relationships in phase I/phase II of drug development. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet.* 18: 49-59.
177. van Schaick EA, de Greef HJ, Ijzerman AP, Danhof M. (1997). Physiological indirect effect modelling of the antipolytic effects of adenosine A1-receptor agonists *J Pharmacokinet Biopharm.* 25: 673-94.
178. Vane JR, Botting RM. (1994) Biological properties of cyclooxygenases products. *Lipid Mediators* Edited by Cunningham R. Academic Press Limited. New York. pp 61-97.
- 179 Vane JR. (1971). Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action of aspirin-like drugs. *Nature (New Biol)* 231: 232-235.
180. Veng-Pedersen P, Modi NB (1992). Pharmacodynamic system analysis of the biophase level predictor and the transduction function *J Pharm Sci.* 81: 925-34-41.
181. Venitz J. (1995). Pharmacokinetic-Pharmacodynamic modeling of reversible drug effects. In: *Handbook of PK-PD Correlation.* Edited by Derendorf H and Hochhaus G. CRC Press. Boca Raton, FL, USA. pp 1-3.
182. Verbeek RK, Blackburn JL, Loewen GR (1983) Clinical Pharmacokinetics of nonsteroidal anti-inflammatory drugs *Clin Pharmacokinet.* 8: 297-331.
183. Walker JS. (1995). PK-PD correlations of analgesics in *Handbook of pharmacokinet-pharmacodynamic correlation.* Edited by Derendorf H and Hochhaus G. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 161-163
- 184 Waxman DJ. (1988) Interactions of hepatic cytochromes P-450 with steroid hormones. *Biochem Pharmacol* 37(1) 71-84
185. Weir R, Browne G, Tunks E, Gafni A, Roberts J. (1996) Gender differences in psychosocial adjustment to chronic pain and expenditure for health care services used *Clin J Pain* 12:277-90
- 186 Winter CA, Rusley EA, Nuss GW. (1962). Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antinflammatory drugs. *Proc Soc Exp Biol Med* 111: 544-51.
187. Wong S, Gardocki JF, Pruss TP (1973) Pharmacological evaluation of tolectin (tolmetin, MeN-2559) and MeN-2891, two antinflammatory agents *J Pharmacol Exp Ther* 185: 127-138
188. Wright JD, Boudinot FD, Ujhelyi, MR. (1996). Measurement and analysis of unbound drug concentrations *Clin Pharmacokinet* 30(6): 445-62
189. Yacobi A, Levy G. (1977). Intra-individual relationships between serum protein binding of drugs in normal human subjects, patients with impaired renal function, and rats. *J Pharm Sci* 66(9):1285-8.
- 190 Yamada Y, Ito K, Nakamura K, Sawada Y, Iga T. (1993). Prediction of therapeutic doses of beta-adrenergic receptor blocking agents based on quantitative structure-pharmacokinetic/pharmacodynamic relationship *Biol Pharm Bull* 16(12):1251-9
191. Yeager MP, Glass DD, Neff RK, Brinck-Johnson T (1985) Epidural anesthesia and analgesia in high risk surgical patients. *Anesthesiology* 66 729-36

-
192. Yirmiya R, Rosen H, Donchin O, Ovadia H. (1994). Behavioral effects of lipopolysaccharide in rats: involvement of endogenous opioids. *Brain Res.* 648: 80-6.
 193. Zhang Y, Shaffer A, Portanova J, Seiber K, Isakson PC. (1997). Inhibition of ciclooxigenase-2 rapidly reverse inflammatory hyperalgesia and prostaglandin E2 production. *J Pharmacol Exp Ther.* 283(3):1069-75.
 194. Zini R, Riant P, Barre J, Tillement JP (1990). Disease-induced variations in plasma protein levels. Implications for drug dosage regimens (Part I). *Clin Pharmacokinet.* 19(2):147-59.

LISTA DE PUBLICACIONES

Artículos de Investigación y Revisiones

1. INFLUENCE OF SEX ON THE PHARMACOKINETICS OF TOLMETIN IN THE RAT. Miguel Jiménez, José Pérez-Urizar, Francisco J. Flores-Murrieta. (2000). *J Pharmacol Toxicol.* 42: 103-105.
2. ANALGESIC EFFICACY AND BIOAVAILABILITY OF KETOROLAC IN POSTOPERATIVE PAIN: A PROBABILITY ANALYSIS. José Pérez-Urizar, Vinicio Granados-Soto, Gilberto Castañeda-Hernández, Enrique Hong, Carlos González, José L. Martínez and Francisco J. Flores-Murrieta. (2000) *Arch. Med. Res.* 31: 191-196.
3. PHARMACOKINETIC-PHARMACODYNAMIC MODELLING. WHY? José Pérez-Urizar, Vinicio Granados-Soto, Francisco J. Flores-Murrieta, and Gilberto Castañeda-Hernández. (2000) *Arch. Med. Res.* 31: 539-545. Review.
4. PHARMACOKINETIC-PHARMACODYNAMIC MODELLING OF ANTIPYRETIC AND ANTI-INFLAMMATORY EFFECTS OF NAPROXEN IN RATS. Mariona Josa, Jose Pérez-Urizar, Javier Rapado, Carmen Dios-Viéitez, Gilberto Castañeda Hernández, Francisco Flores-Murrieta, María Jesús Renedo, and Iñaki F. Trocóniz. (2001) *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 297: 198-205.
5. A POPULATION MODEL FOR TOLMETIN PHARMACOKINETICS (PK) IN RATS CONSIDERING SATURABLE ELIMINATION. José Pérez-Urizar, Iñaki Fernández de Trocóniz, Alma E. Ibarra, Francisco J. Flores Murrieta and Gilberto Castañeda Hemández. Sometido para publicación en *Proc. West. Pharmacol.* (2001).
6. EFFECT OF HYPOALBUMINEMIA ON THE PLASMA PROTEIN BINDING OF TOLMETIN. José Pérez-Urizar, Francisco J. Flores-Murrieta and Gilberto Castañeda-Hernández. Sometido para publicación en *Life Sci (Pharmacol. Lett.)* (2001).

Presentaciones en congresos

1. MECHANISM-BASED PHARMACOKINETIC-PHARMACODYNAMIC MODELING OF TOLMETIN ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY IN RATS. F.J. Flores-Murrieta, A. Ibarra, J. Pérez-Urizar and Gilberto Castañeda-Hernández. En el 43rd Annual Meeting of the Western Pharmacology Society. Tucson, Arizona, USA. Enero de 2000.

2. EFECTO DE LA HIPOALBUMINEMIA EXPERIMENTAL MODERADA SOBRE EL CURSO TEMPORAL DE LA INFLAMACIÓN EN EL MODELO DE LA CARRAGENINA. J. Sánchez, J. Pérez-Urizar, L. González-Flores, P. Aguirre-Bañuelos, A. Ibarra, FJ Flores-Murrieta y G. Castañeda-Hernández. En el marco del XXIII Congreso Nacional de Farmacología. Tuxtla Gtz, Chiapas, México. 5-9 de Marzo del 2000.
3. CARACTERIZACIÓN DE UN MODELO EXPERIMENTAL DE HIPOALBUMINEMIA MODERADA EN RATAS. L. González-Flores, J. Pérez-Urizar, P. Aguirre-Bañuelos, A. Ibarra, C.F. Argüelles, FJ Flores-Murrieta y G. Castañeda-Hernández. En el marco del XXIII Congreso Nacional de Farmacología. Tuxtla Gtz, Chiapas, México. 5-9 de Marzo del 2000.
4. DIFERENCIAS EN LA FARMACOCINETICA DEL TOLMETIN EN LA RATA DEBIDAS AL GENERO. Juan Miguel Jiménez Andrade, J. Pérez-Urizar, P. Aguirre-Bañuelos, A. Ibarra, C.F. Argüelles, FJ Flores-Murrieta y G. Castañeda-Hernández. En el marco del XXIII Congreso Nacional de Farmacología. Tuxtla Gtz, Chiapas, México. 5-9 de Marzo del 2000.
5. PHARMACODYNAMIC MODELLING OF THE ANTIINFLAMMATORY EFFECTS OF NAPROXEN IN THE RAT. M. Josa, J. Pérez-Urizar, J. Rapado, C. Dios-Viéitez, G. Castañeda-Hernández, F. Flores-Murrieta, M. J. Renedo, and I.F. Trocóniz. En el XXIII Congress of the Spanish Society of Pharmacology. Alicante, España. Septiembre del 2000.
6. A POPULATION MODEL FOR TOLMETIN PHARMACOKINETICS (PK) IN RATS CONSIDERING SATURABLE ELIMINATION. José Pérez-Urizar, Iñaki Fernández de Trocóniz, Alma E. Ibarra, Francisco J. Flores Murrieta and Gilberto Castañeda Hernández. En el 44th Annual Meeting of the Western Pharmacology Society. Vancouver, Canada. Marzo de 2001.